Alberts • Bray • Hopkin • Johnson • Lewis • Raff • Roberts • Walter

Introducción a la Biología Celular

3ª EDICIÓN



EDITORIAL MEDICA panamericana

Introducción a la
Biología Celular

3a EDICIÓN

Bruce Alberts

Dennis Bray

Karen Hopkin

Alexander Johnson

Julian Lewis

Martin Raff

Keith Roberts

Peter Walter

EDITORIAL MEDICA
panamericana

BUENOS AIRES - BOGOTÁ - CARACAS - MADRID - MÉXICO - PORTO ALEGRE
e-mail: info@medicapanamericana.com
www.medicapanamericana.com

Título del original en inglés
ESSENTIAL CELL BIOLOGY. 3th edition

Traducción de
EDITORIAL MÉDICA PANAMERICANA, S.A.
Efectuada por los doctores Gabriela López, Andrea Méndez, Adriana Morando, Jorge Negrete y Silvia Rondinone

Revisión de la traducción efectuada por Adriana Schnek.
Licenciada en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
Máster en Epistemología e Historia de la Ciencia, Universidad París VII, Francia

Las ciencias de la salud están en permanente cambio. A medida que las nuevas investigaciones y la experiencia clínica amplían nuestro conocimiento, se requieren modificaciones en las modalidades terapéuticas y en los tratamientos farmacológicos. Los autores de esta obra han verificado toda la información con fuentes confiables para asegurarse de que ésta sea completa y acorde con los estándares aceptados en el momento de la publicación. Sin embargo, en vista de la posibilidad de un error humano o de cambios en las ciencias de la salud, ni los autores, ni la editorial o cualquier otra persona implicada en la preparación o la publicación de este trabajo, garantizan que la totalidad de la información aquí contenida sea exacta o completa y no se responsabilizan por errores u omisiones o por los resultados obtenidos del uso de esta información. Se aconseja a los lectores confirmarla con otras fuentes. Por ejemplo, y en particular, se recomienda a los lectores revisar el prospecto de cada fármaco que planean administrar para cerciorarse de que la información contenida en este libro sea correcta y que no se hayan producido cambios en las dosis sugeridas o en las contraindicaciones para su administración. Esta recomendación cobra especial importancia con relación a fármacos nuevos o de uso infrecuente.



Visite nuestra página web:
http://www.medicapanamericana.com

ARGENTINA
Marcelo T. de Alvear 2145 (C1122AAG) Buenos Aires, Argentina
Tel.: (54-11) 4821-5520 / 2066 / Fax (54-11) 4821-1214
e-mail: info@medicapanamericana.com

COLOMBIA
Carrera 7a A Nº 69-19 - Bogotá D.C., Colombia
Tel.: (57-1) 345-4508 / 314-5014 / Fax: (57-1) 314-5015 / 345-0019
e-mail: infomp@medicapanamericana.com.co

ESPAÑA
Alberto Alcocer 24, 6ª (28036) - Madrid, España
Tel.: (34) 91-1317800 / Fax: (34) 91-1317805 / (34) 91-4570919
e-mail: info@medicapanamericana.es

MÉXICO
Hegel Nº 141, 2º piso
Colonia Chapultepec Morales
Delegación Miguel Hidalgo - C.P. 11570 -México D.F.
Tel.: (52-55) 5250-0664 / 5262-9470 / Fax: (52-55) 2624-2827
e-mail: infomp@medicapanamericana.com.mx

VENEZUELA
Edificio Polar, Torre Oeste, Piso 6, Of. 6 C
Plaza Venezuela, Urbanización Los Caobos,
Parroquia El Recreo, Municipio Libertador, Caracas
Depto. Capital, Venezuela
Tel.: (58-212) 793-2857/6906/5985/1666 Fax: (58-212) 793-5885
e-mail: info@medicapanamericana.com.ve

ISBN: 978-607-7743-18-7

IMPRESO EN MÉXICO



Introducción a la biología celular / Bruce Alberts ...
[et al.] ; tr. por Gabriela López. — 3a ed. — México
: Editorial Médica Panamericana, 2011.
xx, 900 p. : il. ; 28 cm.
Traducción de: Essential cell biology, 3th ed.
Incluye índice
ISBN 978-607-7743-18-7

1. Citología. 2. Biología molecular. 3. Bioquímica. I.
Alberts, Bruce. II. López, Gabriela, tr.

571.6-scdd20 Biblioteca Nacional de México

Esta edición se terminó de imprimir en el mes de diciembre de 2010 en los talleres de Worldcolor Querétaro, S.A. de C.V., Fracc. Agro Industrial La Cruz, El Marqués Querétaro, C.P. 76240 México. Se tiraron 8,000 ejemplares mas sobrantes de reposición.

Prefacio

En el mundo no hay una forma de materia más sorprendente que la célula viva: diminuta, frágil, intrincada maravillosamente con otras, que se vuelve a formar de manera continua y conserva en su DNA un registro de información que data de más de tres mil millones de años, en un tiempo en que la Tierra apenas se había enfriado a partir de los materiales calientes del sistema solar. Modificada sin cesar y diversificada por la evolución, extraordinariamente versátil y adaptable, la célula conserva la esencia de la compleja maquinaria química autorreplicante que es compartida y que se repite en cada organismo vivo sobre la faz de la Tierra: en cada animal, en cada hoja, en cada bacteria, en cada levadura.

El estudio de la biología celular podría originarse en la mera curiosidad. Pero existen, además, muchas razones prácticas por las cuales la biología celular debe formar parte de la educación de todos: estamos formados por células, nos alimentamos de células y nuestro mundo es habitable por la actividad de las células. Es necesario entender la biología celular para comprendernos a nosotros mismos; para cuidar nuestra salud y nuestra alimentación, y para proteger a los ecosistemas en peligro de extinción. El desafío para los científicos es profundizar el conocimiento y encontrar nuevas formas de aplicación. Pero todos nosotros, como ciudadanos, necesitamos conocer el tema para lidiar con el mundo moderno, desde nuestras propias cuestiones de salud hasta los grandes temas públicos relacionados con el cambio ambiental, las tecnologías biomédicas, la agricultura y las enfermedades epidémicas.

La biología celular es una disciplina amplia y tiene vínculos con casi todas las ramas de la ciencia. Su estudio proporciona una gran educación científica. Sin embargo, resulta fácil perderse en el detalle y distraerse con la sobrecarga de información y de terminología técnica. Por eso, en este libro se presenta una explicación sencilla y atractiva de los principios esenciales. Buscamos explicar, de forma clara, incluso para un lector que se acerca por primera vez a la biología moderna, cómo funciona la célula viva; cómo las moléculas de la célula –en especial las proteínas, el DNA y el RNA– cooperan creando este sistema notable que se nutre, responde a los estímulos, se mueve, crece, se divide y se duplica.

La necesidad de una explicación clara de los elementos esenciales de la biología celular se volvió evidente cuando emprendimos la tarea de escribir la quinta edición de *Biología molecular de la célula*. Ésta es una obra de gran importancia dirigida a estudiantes avanzados y de posgrado, especializados en las ciencias biológicas o la medicina. Las personas que no son expertas y que buscan una introducción a la biología celular, podrían pensar que este libro contiene demasiados detalles para sus necesidades. Por el contrario, *Introducción a la Biología Celular* es un libro concebido para un público general y proporciona los fundamentos de la biología celular necesarios para comprender los aspectos biomédicos y las cuestiones biológicas que afectan nuestras vidas.

En esta tercera edición actualizamos cada parte del libro, con material nuevo sobre la estructura del cromosoma y epigenética, microRNA y RNAi, el control de calidad de las proteínas, el reconocimiento entre las células, la variación genética, las células madre y su potencial médico, los tratamientos racionales para el cáncer y

la evolución del genoma, entre otros temas. Mejoramos la descripción de la energética y la termodinámica, integramos el ciclo celular y la división celular en un solo capítulo y actualizamos la sección "Biología experimental" con la descripción de los experimentos que ilustran cómo los biólogos abordan cuestiones específicas y el modo en que esos resultados experimentales le dan forma a ideas futuras.

Como en las ediciones anteriores, los diagramas del libro destacan los conceptos centrales y omiten los detalles innecesarios. Los términos clave introducidos en cada capítulo están resaltados cuando aparecen por primera vez y, además, se reúnen al final del libro en un extenso glosario ilustrado. No se han incluido referencias bibliográficas; quienes deseen explorar un tema con mayor profundidad pueden consultar las referencias bibliográficas de *Biología molecular de la célula* o buscar revisiones recientes en la bibliografía actual a través de alguno de los potentes motores de búsqueda, como Pubmed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) o Google Académico (http://scholar.google.com).

Las preguntas que se presentan en los márgenes del texto y al final de cada capítulo son una característica destacada del libro, y su objetivo es estimular a los estudiantes a pensar sobre lo que han leído y a hacer una pausa para verificar la comprensión del tema. Muchas preguntas desafían al estudiante a situar la información recién adquirida en un contexto biológico más amplio, y algunas tienen más de una respuesta válida. Otras invitan a formular hipótesis. Las respuestas a todas las preguntas se agrupan al final del libro, y en muchos casos se proporciona una perspectiva alternativa sobre el material presentado en el texto principal.

Para los que deseen comprender la biología de forma más activa y analizar cómo los biólogos celulares extraen conclusiones de los experimentos, recomendamos la quinta edición de *Biología molecular de la célula: Aprendizaje basado en problemas*, de John Wilson y Tim Hunt, que contiene preguntas de todos los niveles de dificultad y es una fuente de problemas prácticos que estimula el pensamiento de los docentes y los estudiantes. Nos hemos inspirado en esa obra para formular algunas de las preguntas de *Introducción a la Biología Celular* y estamos muy agradecidos a sus autores.

Gracias a la creciente tecnología computarizada para el tratamiento de imágenes, en la actualidad es posible lograr imágenes espectaculares del funcionamiento interno de las células vivas. Estas imágenes están incluidas en un DVD-ROM dirigido a los docentes. Contiene más de 130 videoclips, animaciones, estructuras moleculares y microfotografías de alta resolución, diseñados para complementar cada capítulo del libro. Al observar el movimiento lento de las células, su división, la segregación de sus cromosomas o el reordenamiento de su superficie uno no puede menos que asombrarse respecto de los mecanismos moleculares que subyacen a estos procesos. La película de la replicación del DNA incluida en el DVD es un ejemplo vívido de lo que la ciencia permite descubrir debajo de la superficie de las cosas cotidianas. Esperamos que el DVD les resulte útil a los docentes para motivar y despertar el interés de los estudiantes en la biología celular, así como para reforzar los conceptos básicos tratados en el texto y hacer el aprendizaje de la biología celular más sencillo y gratificante.

Al igual que en *Biología molecular de la célula*, cada capítulo de *Introducción a la Biología Celular* es el producto del esfuerzo comunitario, con borradores individuales que circulan de un autor a otro. Además, recibimos la colaboración de muchas personas que mencionamos en los agradecimientos. A pesar de nuestro esfuerzo, es inevitable que el libro presente errores. Animamos al lector que encuentre alguno a que nos lo haga llegar, de modo que podamos corregirlo en la próxima edición.

Agradecimientos

Agradecemos las numerosas contribuciones de profesores y estudiantes de todo el mundo en la creación de esta tercera edición. En particular, estamos muy agradecidos a los estudiantes que participaron en los grupos de discusión, que proporcionaron invaluables comentarios sobre sus experiencias con el libro y los materiales multimediales, y cuyas sugerencias fueron implementadas en esta edición.

Asimismo, agradecemos especialmente a los profesores que organizaron los grupos de discusión en sus universidades: Chris Brandt en la University of Western Ontario; David L. Gard en la University of Utah, Juliet Spencer en la University of San Francisco, y Keren Witkin y Linda Huang en la University of Massachusetts, Boston. Apreciamos enormemente su hospitalidad.

También recibimos revisiones detalladas de profesores que usaron la segunda edición, y agradecemos su colaboración a: Margarida D. Amaral, University of Lisbon; Lynne Arneson, American University; Karl Aufderheide, Texas A&M University; David K. Banfield, The Hong Kong University of Science and Technology; Stephen F. Baron, Bridgewater College; Deborah Bielser, University of Illinois en Urbana-Champaign; Barbara D. Boyan, Georgia Institute of Technology; Chris Brandt, University of Western Ontario; Keith Brown, University of Bristol; Jane Bruner, California State University Stanislaus; Patrick Bryan, Middlesex Community College; Sharon K. Bullock, Virginia Commonwealth University; Mike Clemens, St. George's Hospital Medical School, University of London; Anne Cordon, University of Toronto en Mississauga; Andrew Dalby, University of Exeter; Dan Eshel, Brooklyn College; Nicolas Forraz, Kingston University; David L. Gard, University of Utah; Mark Grimes, University of Montana; Hollie Hale-Donze, Louisiana State University; Lynn Hannum, Colby College; Nail M. Hasan, Birzeit University; Jeannette M. Loutsch, Arkansas State University; Charles Mallery, University of Miami; Kathy Martin-Troy, Central Connecticut State University; Gordon T. A. McEwan, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen; Colin McGuckin, Kingston University; Gerard McNeil, York College, The City University of New York; Roger W. Melvold, University of North Dakota, School of Medicine & Health Sciences; Cristina Murga, Universidad Autónoma de Madrid; T. Page Owen, Jr., Connecticut College; Martin Rumsby, University of York; Esther Siegfried, University of Pittsburgh en Johnstown; Roger D. Sloboda, Dartmouth College; Julio Soto, San Jose State University; Juliet Spencer, University of San Francisco; Paul H. Tomasek, California State University Northridge; Gary Wessel, Brown University; Esther F. Wheeler, Texas Tech University; Keren Witkin, University of Massachusetts, Boston.

Un reconocimiento especial a David Morgan por su colaboración para formular y revisar el capítulo sobre división celular.

Estamos muy agradecidos, también, a los lectores que nos alertaron sobre los errores que encontraron en la edición anterior. Gran parte del personal de la editorial Garland contribuyó a la realización de este libro e hizo que nuestro trabajo allí fuera un placer. En primer lugar, estamos en deuda con Michael Morales, nuestro editor, quien coordinó la iniciativa, organizó la revisión inicial y los grupos de discusión, colaboró estrechamente con los autores en sus capítulos, nos impulsó cuando decaíamos y desempeñó un papel fundamental en el diseño, la coordinación y la producción del DVD. Agradecemos a Sigrid Masson quien dirigió el flujo de los capítulos a través del proceso de producción, corrigió las pruebas de galera de todo el libro y supervisó la redacción del banco de preguntas. A Kate Ghezzi y Monica Toledo, que aportaron su asistencia editorial. A Nigel Orme, que redibujó en forma digital y, en algunos casos, a mano con habilidad y talento, las ilustraciones originales creadas por el autor Keith Roberts. A Matt McClements por el diseño gráfico del libro y el DVD. A Emma Jeffcock por su brillante labor al diseñar la totalidad de la obra e incorporar de manera minuciosa las interminables correcciones. A Eleanor Lawrence y Sherry Granum por la edición del desarrollo de los capítulos individuales que permitió hacer muchas mejoras, y a Eleanor por la lectura completa del libro a fin de darle mayor claridad y coherencia, y por la revisión y ampliación del glosario. A Adam Sendroff y Lucy Brodie por reunir los comentarios de los lectores y distribuir el libro en todo el mundo. A Denise Schanck, Vicepresidenta de Garland Science, que dirigió con gran dedicación y habilidad este proyecto.

Por último, agradecemos, una vez más, a nuestras familias, colegas y colaboradores por su apoyo e infinita tolerancia.

Material complementario para los docentes

El DVD de Introducción a la Biología Celular

Este DVD destinado a los docentes es el complemento perfecto del libro, una herramienta que lo ayudará a preparar las clases y los exámenes de manera sencilla. Los docentes interesados podrán solicitarlo a través del sitio web de Editorial Médica Panamericana, www.medicapanamericana.com.

En el documento ECB3_Media_Guide.pdf, incluido en el DVD, encontrará una descripción detallada del contenido del disco. Éste comprende distintos recursos (en inglés):

Películas

Entre estas más de 130 películas hay animaciones, vídeos y guías animadas. En el documento pdf antes descrito se encuentra el índice de las películas disponibles para cada capítulo y el texto de las narraciones (en inglés).

El libro incluye referencias a todas las imágenes interactivas (p. ej., **Película 1.1**), lo que permite que éstas se empleen como complemento del texto en el momento adecuado. El reproductor de imágenes tiene asimismo un buscador, que permite encontrar la referencia deseada con rapidez.

Las películas se encuentran también en forma independiente en la carpeta Movie Vault en formatos WMV, QuickTime® e iPod®. El primero es adecuado para colocar las películas en presentaciones de PowerPoint® para Windows®. Las versiones en QuickTime son convenientes para presentaciones de PowerPoint® para Macintosh®, y las últimas tienen un formato específico para iPod e iTunes®.

Preguntas

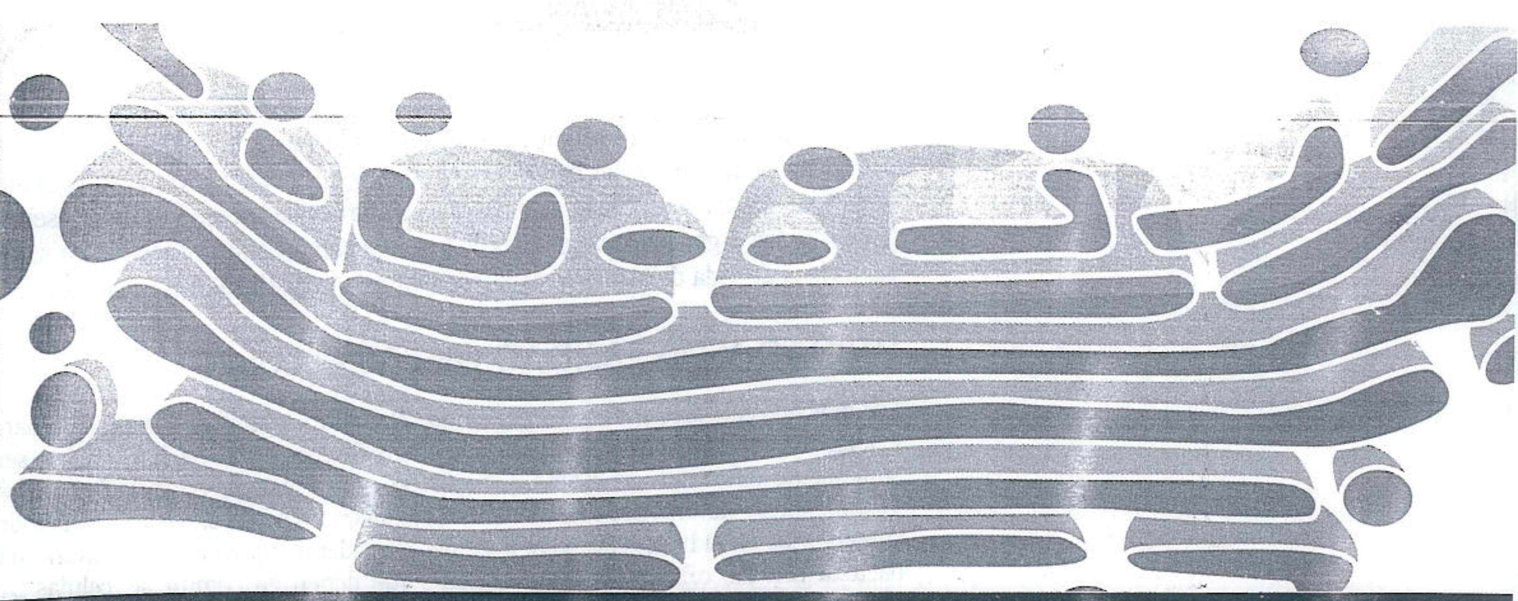
Para cada uno de los capítulos hay una selección de preguntas, con sus respuestas. A ellas se accede a través del reproductor de imágenes.

Ilustraciones

La carpeta Art of ECB3 contiene todas las imágenes del libro en presentaciones de PowerPoint®, que pueden editarse, y como imágenes independientes en formato JPEG.

Índice de láminas y recuadros

Índice



CAPÍTULO **UNO** 1

Introducción a las células

¿Qué significa estar vivo? Las personas, las petunias y las algas de un estanque están vivos; las piedras, la arena y las brisas de verano, no. ¿Pero cuáles son las propiedades fundamentales que caracterizan a los seres vivos y los distinguen de la materia inerte?

La respuesta comienza con un hecho básico que, en la actualidad, los biólogos dan por supuesto, pero que marcó una revolución en el pensamiento cuando fue establecido por primera vez hace 170 años. Todos las organismos vivos están formados por **células**: unidades pequeñas rodeadas de una membrana que contienen una solución acuosa concentrada de sustancias químicas y dotadas de la extraordinaria capacidad para crear copias de sí mismas mediante el crecimiento y la división en dos células (fisión). Las células aisladas son las formas de vida más simples. Los organismos superiores, como el hombre, son comunidades de células que derivan del crecimiento y la división de una célula fundadora única: cada animal, vegetal u hongo es una colonia extensa de células individuales que cumplen funciones especializadas, coordinadas por sistemas complejos de comunicación.

Las células, por lo tanto, son las unidades fundamentales de la vida, y la *biología celular* es el medio al que debemos recurrir para encontrar la respuesta a la pregunta de qué es la vida y cómo funciona. Con una comprensión más profunda de la estructura, la función, el comportamiento y la evolución de las células, podemos comenzar a tratar los grandes problemas históricos de la vida en la Tierra: sus orígenes misteriosos, su diversidad asombrosa y la invasión de cada hábitat concebible. Además, la biología celular puede proporcionarnos respuestas a los interrogantes sobre nosotros mismos: ¿De dónde venimos? ¿Cómo nos desarrollamos a partir de un solo oocito fecundado? ¿Cómo es que cada uno de nosotros es diferente de otras personas de la Tierra? ¿Por qué enfermamos, envejecemos y morimos?

En este capítulo, comenzaremos por explorar la gran variedad de formas que pueden presentar las células y también daremos una mirada preliminar a la maquina-

ria química que todas las células tienen en común. Luego, consideraremos cómo se hacen visibles las células bajo el microscopio y qué podemos ver cuando observamos su interior. Por último, analizaremos cómo se pueden aprovechar las semejanzas de los organismos vivos para lograr una comprensión coherente de todas las formas de vida de la Tierra, de la bacteria más pequeña al roble más grande.

UNIDAD Y DIVERSIDAD DE LAS CÉLULAS

Los biólogos celulares suelen referirse a "la célula" sin especificar ninguna en particular. Sin embargo, las células no son todas iguales y, de hecho, pueden ser sumamente diferentes. Se estima que existen, por lo menos, 10 millones –quizá 100 millones– de especies distintas de organismos vivos en el mundo. Antes de sumergirnos en la biología celular, debemos considerar: ¿qué tiene en común una bacteria con las células de una mariposa; qué tienen en común las células de una rosa con las de un delfín? Y, ¿de qué manera se diferencian?

Las células varían muchísimo en su aspecto y su función

Comencemos con el tamaño. Una célula bacteriana –p. ej., un *Lactobacillus* de un trozo de queso– mide unos pocos **micrómetros** (μm) de longitud, lo que equivale a alrededor de 25 veces menos que el diámetro de un pelo humano. El huevo de una rana –que también es una célula única– tiene un diámetro aproximado de 1 mm. Si establecemos una escala en la cual el *Lactobacillus* tuviera el tamaño de una persona, el huevo de la rana tendría una altura equivalente a 800 m.

Las células también varían ampliamente en su forma y su función. Considérese la galería de células que se ilustran en la figura 1-1. La célula nerviosa típica del cerebro humano está considerablemente extendida; envía sus señales eléctricas a lo largo de una protrusión delgada que es 10.000 veces más larga que ancha y recibe señales de otras células a través de una masa de prolongaciones más cortas que brotan de su cuerpo como las ramas de un árbol. Un *Paramecium* en una gota de agua de estanque tiene la forma de un submarino y está cubierto por decenas de miles de cilios, extensiones pilosas cuyo movimiento ondulante desplaza a la célula hacia adelante haciéndola rotar a medida que avanza. La célula de la superficie de una planta es un prisma aplanado inmóvil rodeado de una cubierta rígida de celulosa, con un revestimiento externo de cera impermeable. La bacteria *Bdellovibrio* es un torpedo con forma de salchicha impulsado por un *flagelo* similar a un tirabuzón que está unido a su extremo posterior, donde actúa como propulsor. Un neutrófilo o un macrófago del cuerpo de un animal se desplaza por sus tejidos, cambia de forma constantemente y fagocita restos celulares, microorganismos extraños y células muertas o moribundas.

Algunas células sólo están revestidas de una membrana muy delgada; otras aumentan esta cubierta delicada con una capa externa con la que forman *paredes celulares* rígidas, o se rodean de un material mineralizado, duro, como el que se encuentra en el hueso.

Las células también son notablemente diversas en cuanto a sus requerimientos químicos y actividades. Algunas necesitan oxígeno para vivir; para otras, éste es letal. Algunas requieren poco más que aire, luz solar y agua como materiales básicos; otras necesitan una mezcla de moléculas complejas producidas por otras células. Algunas parecen ser fábricas especializadas en la producción de sustancias particulares, como hormonas, almidón, grasa, látex o pigmentos. Mientras que las células del músculo, queman combustible y realizan trabajo mecánico; otras son generadores de electricidad, como las células musculares modificadas de la anguila eléctrica.

Ciertas modificaciones especializan tanto a la célula que la despojan de la posibilidad de reproducirse. Esta especialización no tendría sentido en especies de células que viven aisladas. En cambio, en un organismo pluricelular existe una división del trabajo entre las células, lo que permite que algunas se especialicen en un grado extremo para tareas particulares, esto las vuelve dependientes de las otras

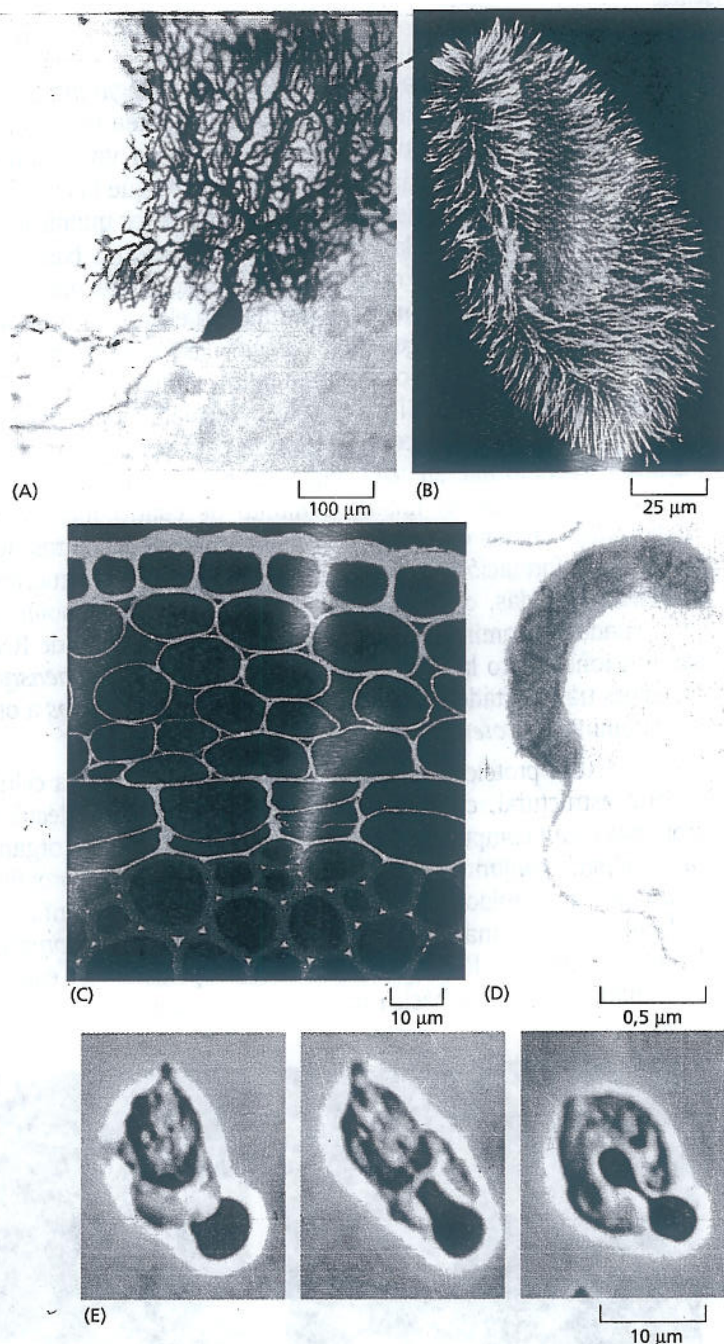


Figura 1-1. Las células presentan una gran variedad de tamaños y formas. (A) Célula nerviosa del cerebelo (parte del cerebro que controla el movimiento). Esta célula tiene prolongaciones sumamente ramificadas, mediante las cuales recibe señales de hasta otras 100.000 células nerviosas. (B) *Paramecium.* Este protozoo –una sola célula gigante– nada gracias a los cilios propulsores que cubren su superficie. (C) Corte del tallo de una planta joven en el que la celulosa está teñida de *rojo*, y otro componente de la pared celular, la pectina, de *anaranjado.* La capa más externa de las células se encuentra en el extremo superior de la foto. (D) Bacteria pequeña, *Bdellovibrio bacteriovorus*, que utiliza un flagelo terminal para impulsarse. Esta bacteria ataca, mata y se alimenta de otras bacterias más grandes. (E) Leucocito humano (neutrófilo) que se acerca y fagocita un glóbulo rojo. (A, cortesía de Constantino Sotelo; B, cortesía de Anne Fleury, Michel Laurent y André Adoutte; D, cortesía de Murry Stein; E, cortesía de Stephen E. Malawista y Anne de Boisfleury Chevance).

células para muchos requerimientos básicos. Incluso la necesidad más básica, la de transmitir las instrucciones genéticas a la generación siguiente, es delegada a especialistas: el óvulo y el espermatozoide.

Las células vivas tienen propiedades básicas similares

Pese a la extraordinaria diversidad de plantas y animales, el hombre ha reconocido desde tiempos inmemoriales que estos organismos tienen algo en común, algo que les da derecho a ser considerados organismos vivos. Gracias a la invención del microscopio, quedó claro que las plantas y los animales son conjuntos de células, que las células también puede existir como organismos independientes y que cada célula está viva en el sentido de que puede crecer, reproducirse, convertir la energía de una forma a otra, responder a su ambiente, etcétera. Pero, aunque fue bastante fácil reconocer la vida, resultó sumamente difícil establecer en qué sentido todos los organismos vivos se parecían entre sí. Los libros de textos debieron definir la vida en términos generales abstractos relacionados con el crecimiento y la reproducción.

PREGUNTA 1-1

Es fácil reconocer la "vida", pero es difícil definirla. El diccionario define a la vida como "el estado o calidad que distingue a los seres u organismos vivos de los muertos y de la materia inorgánica, que se caracterizan principalmente por el metabolismo, el crecimiento y la capacidad para reproducirse y responder a estímulos". Por lo general, los libros de biología son algo más elaborados; por ejemplo, de acuerdo con un texto difundido, los organismos vivos:

1. Son notablemente organizados en comparación con los objetos inanimados naturales.
2. Presentan homeostasis, lo que permite el mantenimiento de un medio interno relativamente constante.
3. Se reproducen.
4. Crecen y se desarrollan a partir de orígenes simples.
5. Obtienen energía y materia del medio ambiente y las transforman.
6. Responden a estímulos.
7. Se adaptan a su medio ambiente.

Otorgue una puntuación a usted, a una aspiradora y a una papa de acuerdo con estas características.

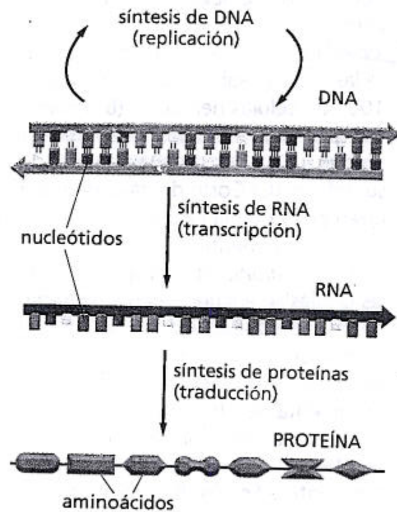
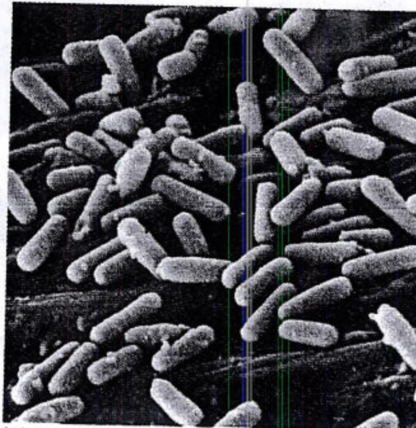
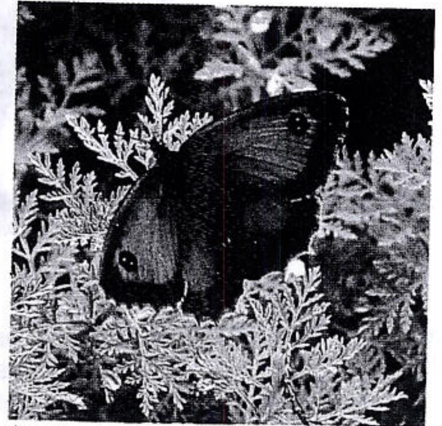


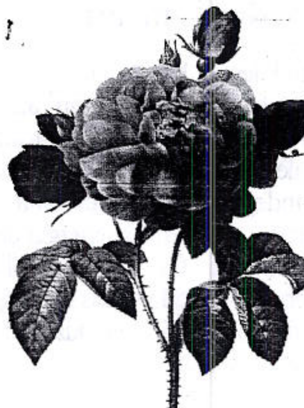
Figura 1-2. En todas las células vivas, la información genética fluye del DNA al RNA (transcripción) y del RNA a las proteínas (traducción). Estos procesos son conocidos en conjunto como expresión génica.

Los descubrimientos de la bioquímica y de la biología molecular hicieron desaparecer este problema de una manera notable. Si bien presentan infinitas variaciones en su aspecto exterior, todos los organismos vivos son fundamentalmente similares en el interior. En la actualidad, se sabe que las células se parecen de un modo asombroso en los detalles de sus propiedades químicas y que comparten la misma maquinaria para la mayoría de las funciones básicas. Todas las células están compuestas por las mismas clases de moléculas que participan en los mismos tipos de reacciones químicas (tratado en el cap. 2). En todos los organismos vivos, las instrucciones genéticas *–genes–* están almacenadas en moléculas de DNA, escritas en el mismo código químico, construidas con los mismos componentes básicos químicos, interpretadas esencialmente por la misma maquinaria química y duplicadas de la misma forma para permitir la reproducción del organismo. De esta forma, en cada célula, las extensas cadenas de polímeros de **DNA** están formadas con el mismo conjunto de cuatro monómeros, denominados *nucleótidos*, unidos en distintas secuencias como las letras de un alfabeto para transmitir información diferente. En cada célula, las instrucciones contenidas en el DNA son leídas, o *transcriptas*, en un conjunto de polímeros químicamente relacionados denominado **RNA** (Fig. 1-2). Las moléculas de RNA cumplen diversas funciones, pero la clase principal actúa como *RNA mensajero*: a su vez, los mensajes transportados por estas moléculas son *traducidos* a otro tipo de polímero denominado *proteína*.

Las moléculas proteicas dominan el comportamiento de la célula y actúan como soporte estructural, catalizadores químicos, motores moleculares, etcétera. Las proteínas están compuestas por *aminoácidos*, y todos los organismos vivos utilizan el mismo conjunto de 20 aminoácidos para fabricar proteínas. Pero los aminoácidos están unidos en secuencias diferentes, que confieren a cada tipo de molécula proteica una forma tridimensional diferente, o *conformación*, así como distintas secuencias de letras forman distintas palabras. De esta manera, la misma maquinaria bioquímica básica ha servido para generar toda la gama de organis-


(A)


(B)


(C)

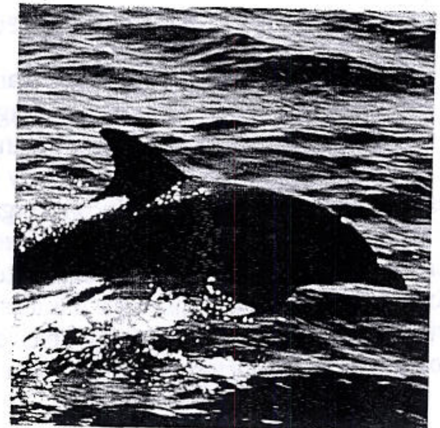

(D)

Figura 1-3. Todos los organismos vivos están formados por células. Una bacteria, una mariposa, una rosa y un delfín están compuestos por células que tienen propiedades similares y operan de acuerdo con los mismos principios básicos. (A, cortesía de Tony Brain y Science Photo Library; C, cortesía de John Innes Foundation; D, cortesía de Jonathan Gordon, IFAW).

mos vivos (Fig. 1-3). En los capítulos 4-8, se analiza con más detalle la estructura y la función de las proteínas, el RNA y el DNA.

Si las células son la unidad básica de la materia viviente, nada inferior a la célula puede ser denominado con propiedad de estructura viviente. Los virus, por ejemplo, son paquetes compactos de información genética –en forma de DNA o de RNA– revestido en general por proteínas, pero carecen de la capacidad de reproducirse por sí mismos. En cambio, se copian sólo parasitando la maquinaria reproductiva de las células que invaden. Por lo tanto, los virus son zombis químicos: son inertes e inactivos cuando están fuera de las células hospedadora, pero ejercen un control nocivo una vez que ingresan.

En apariencia, todas las células actuales han evolucionado a partir del mismo antepasado

La célula se reproduce mediante la duplicación de su DNA y la posterior división en dos células, con transmisión de una copia de las instrucciones genéticas codificadas en el DNA a cada una de sus células hijas. Por eso, las células hijas se parecen a la célula madre. Sin embargo, la copia no siempre es perfecta, y las instrucciones, en ocasiones, son adulteradas por *mutaciones* que modifican el DNA. En consecuencia, las células hijas no siempre coinciden exactamente con la célula madre.

Las mutaciones –los cambios del DNA– pueden generar una descendencia con modificaciones negativas (porque las células hijas son menos capaces de sobrevivir y de reproducirse), positivas (porque son más aptas para sobrevivir y reproducirse) o neutras (porque son genéticamente diferentes, pero igual de viables). La lucha por la supervivencia elimina a las primeras, favorece a las segundas y tolera a las terceras. Los genes de la generación siguiente serán los genes de los sobrevivientes. De manera intermitente, el patrón de descendencia puede verse complicado por la reproducción sexual, donde dos células de la misma especie se fusionan y los DNA respectivos se reúnen; de este modo, las cartas genéticas se barajan de nuevo, se reparten y se distribuyen en nuevas combinaciones a la generación próxima, y se vuelve a poner a prueba su valor para la supervivencia.

Estos principios simples de cambio genético y selección, aplicados reiteradamente a través de miles de millones de generaciones celulares, son la base de la **evolución**: el proceso mediante el cual las especies vivas se van modificando y adaptando de manera gradual a su ambiente en formas cada vez más sofisticadas. La evolución proporciona una explicación sorprendente aunque convincente de por qué las células son tan similares en sus aspectos esenciales: todas han heredado sus instrucciones genéticas del mismo antepasado común. Se estima que esta célula ancestral existió entre 3.500 millones y 3.800 millones de años atrás, y debemos suponer que contenía un prototipo de la maquinaria universal de toda la vida en la Tierra actual. A través de las mutaciones, sus descendientes se diversificaron de modo gradual ocupando cada hábitat terrestre con organismos vivos aprovechando el potencial de la maquinaria de una infinita variedad de maneras.

> **PREGUNTA 1-2**
> Las mutaciones son errores del DNA que modifican el plan genético de la generación anterior. Imagine una fábrica de calzado. ¿Esperaría que los errores (es decir, cambios involuntarios) en la copia del diseño del zapato indujeran mejoras en los zapatos producidos? Explique su respuesta.

Los genes proporcionan las instrucciones que determinan la forma, la función y el comportamiento complejo de la célula

El **genoma** de la célula –es decir, la biblioteca completa de información genética de su DNA– proporciona un programa genético que le informa a la célula cómo funcionar y, en el caso de células vegetales y animales, cómo convertirse en organismos con cientos de tipos celulares diferentes. En un vegetal o un animal, estas células pueden ser extraordinariamente variadas, como se analiza en el capítulo 20. Los adipocitos, las células cutáneas, las células óseas y las células nerviosas parecen tan disímiles como puede ser cualquier célula. No obstante, todos estos *tipos celulares diferenciados* se generan durante el desarrollo embrionario a partir de un solo oocito fecundado, y todos contienen copias idénticas del DNA de la especie. Sus caracteres diversos provienen de la forma en la que las células utili-

zan sus instrucciones genéticas. Distintas células *expresan* diferentes genes; es decir, sus genes producen ciertas proteínas y no otras, lo que depende de las señales que ellas y sus células ancestrales han recibido de su entorno.

Por lo tanto, el DNA no es sólo una lista de compras que especifica las moléculas que cada célula debe tener, y una célula no es sólo un conjunto de todos los elementos de la lista. Cada célula es capaz de llevar a cabo una variedad de tareas biológicas, según su medio y su historia, utilizando la información codificada en el DNA para guiar sus actividades. Más adelante, se describirá en detalle cómo el DNA define tanto los elementos de la lista de la célula como las reglas que deciden el momento y el lugar donde se deben fabricar estos elementos.

LAS CÉLULAS BAJO EL MICROSCOPIO

En la actualidad, se dispone de la tecnología para descifrar los principios básicos que rigen la estructura y la actividad de la célula. Pero la biología celular comenzó sin estos recursos. Los primeros biólogos celulares comenzaron observando simplemente tejidos y células, después los abrieron o los cortaron para intentar ver su contenido. Lo que vieron fue para ellos profundamente desconcertante: un conjunto de objetos diminutos y apenas visibles cuya relación con las propiedades de la materia viva parecía un misterio inescrutable. No obstante, este tipo de investigación visual fue el primer paso hacia el conocimiento y sigue siendo esencial en el estudio de la biología celular.

Por lo general, las células son muy pequeñas, demasiado pequeñas para observarlas a simple vista. No se las visualizó hasta el siglo XVII, cuando se inventó el microscopio. A partir de ese momento y durante cientos de años, todo lo que se supo sobre las células se descubrió con este instrumento. Los *microscopios ópticos*, que utilizan la luz visible para iluminar las muestras, todavía son piezas vitales del equipo del laboratorio de biología celular.

Si bien estos instrumentos, en la actualidad, incorporan muchas mejoras complejas, las propiedades de la luz en sí misma fijan un límite a la precisión del detalle que puedan revelar. Los microscopios electrónicos, inventados en la década de los treinta, sobrepasan este límite mediante el empleo de haces de electrones en lugar de haces de luz como fuente lumínica, lo que amplía mucho la capacidad para visualizar los detalles sutiles de las células e incluso posibilita la visualización individual de algunas moléculas de mayor tamaño. La **lámina 1-1** (pp. 8-9) presenta una revisión de los principales tipos de microscopios utilizados para examinar células.

PREGUNTA 1-3

Usted está involucrado en un ambicioso proyecto de investigación: el de crear vida en un tubo de ensayo. Para ello hierve una mezcla rica de extracto de levadura y aminoácidos en un recipiente junto con una pizca de las sales inorgánicas que son esenciales para la vida. Usted sella el recipiente y lo deja enfriar. Después de varios meses, el líquido sigue limpio y no hay signos de vida. Un amigo sugiere que la exclusión del aire fue un error, ya que la mayoría de los organismos vivos requieren oxígeno. Usted repite el experimento, pero en esta oportunidad deja el recipiente expuesto a la atmósfera. Para su gran deleite, el líquido se torna turbio al cabo de unos cuantos días y con el microscopio observa pequeñas células que claramente están creciendo y dividiéndose. ¿Este experimento demuestra que usted logró generar una nueva forma de vida? ¿Cómo rediseñaría el experimento para permitir la entrada de aire en el recipiente pero eliminar a la vez la posibilidad de que la contaminación explique los resultados? (Para una respuesta ya enunciada revise los experimentos de Louis Pasteur).

La invención del microscopio óptico condujo al descubrimiento de las células

La invención del microscopio óptico dependió de los avances en la producción de las lentes de cristal. En el siglo XVII, se perfeccionaron las lentes hasta el punto que se pudieron usar para fabricar microscopios simples. Con el empleo de un instrumento de este tipo, Robert Hooke examinó un trozo de corcho y en 1665 le informó a la Royal Society of London (Sociedad Real de Londres) que el corcho estaba compuesto por un conjunto de cámaras diminutas, que denominó "células". El nombre de "célula" se mantuvo, aunque las estructuras que Hooke describió eran sólo las paredes celulares que quedaron después de que murieran las células vegetales vivas que se encontraban en su interior. Más adelante, Hooke y su contemporáneo holandés Antoni van Leeuwenhoek pudieron observar células vivas, lo que reveló un mundo oculto lleno de organismos microscópicos móviles.

Casi durante 200 años, el microscopio óptico sería un instrumento exótico, accesible sólo para pocas personas con recursos económicos. Recién en el siglo XIX comenzó a ser ampliamente utilizado para la observación de las células. La aparición de la biología celular como una ciencia independiente fue un proceso gradual al que contribuyeron muchas personas, aunque en general se considera que su nacimiento oficial

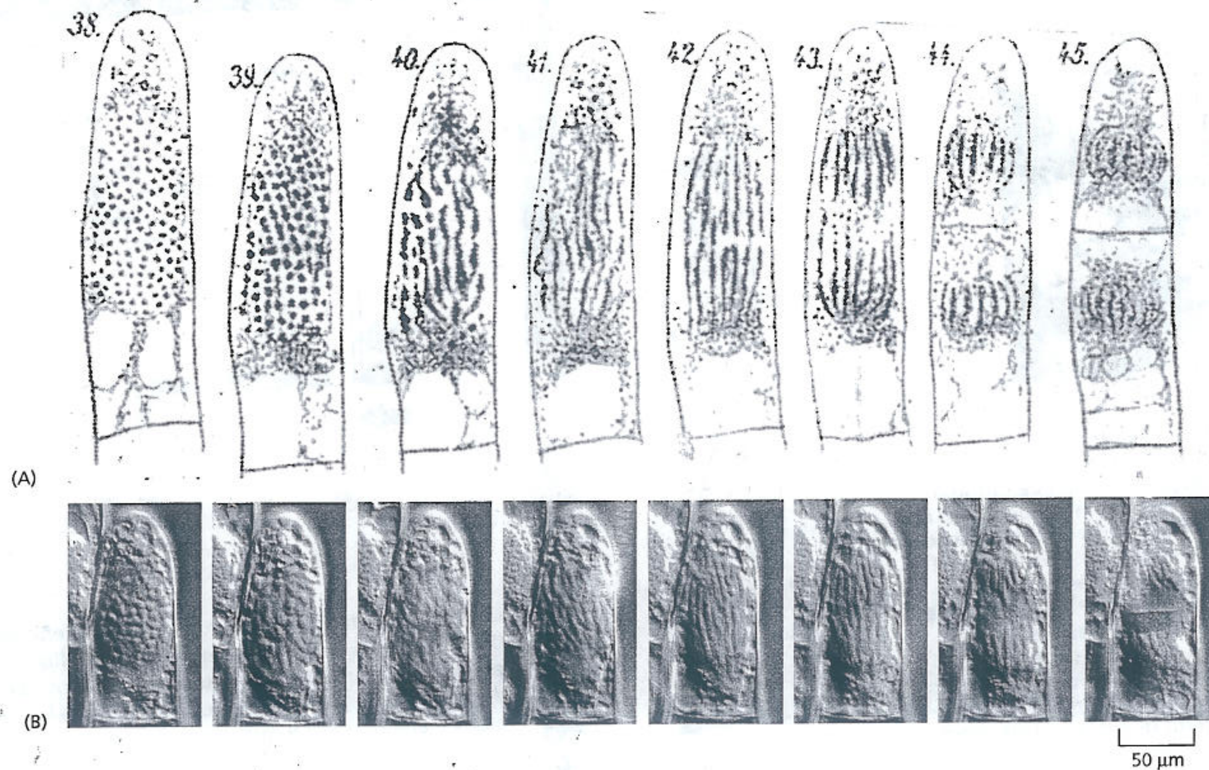


Figura 1-4. Las nuevas células se forman por división de células existentes. (A) En 1880, Eduard Strasburger dibujó una célula vegetal viva (una célula pilosa de la flor de *Tradescantia*), que observó mientras se dividía en dos células hijas en un período de 2,5 horas. (B) Una célula viva comparable fotografiada recientemente con un microscopio óptico moderno. (B, cortesía de Peter Hepler).

está marcado por dos publicaciones: la del botánico Matthias Schleiden en 1838 y la del zoólogo Theodor Schwann en 1839. En estos artículo, Schleiden y Schwann documentaron los resultados de una investigación sistemática de los tejidos de plantas y animales con el microscopio óptico y mostraron que las células eran los componentes básicos de todos los tejidos vivos. Sus trabajos y los de otros microscopistas del siglo XIX, condujeron lentamente a la idea de que todas las células vivas se forman por la división de células preexistentes, un principio denominado a veces *teoría celular* (Fig. 1-4). La idea de que los organismos vivos no se generan en forma espontánea, sino que pueden ser generados sólo por organismos preexistentes fue combatida con vehemencia, pero finalmente se confirmó mediante los experimentos realizados en la década de 1880 por Louis Pasteur.

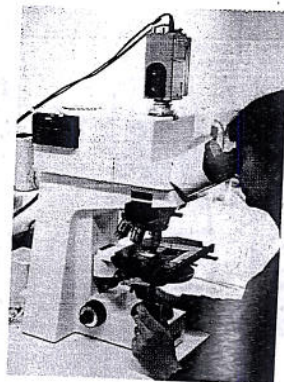
El principio de que las células se generan sólo a partir de células preexistentes y que heredan de éstas sus características es la base de la biología y le da al tema una cualidad particular: en biología, las preguntas sobre el presente están ineludiblemente vinculadas con preguntas sobre el pasado. Para comprender por qué las células y los organismos actuales se comportan como lo hacen, necesitamos conocer su historia desde los orígenes imprecisos de las primeras células en la Tierra. La teoría de la evolución de Darwin, publicada en 1859, aportó la clave para comprender esta historia, al demostrar cómo la variación aleatoria y la selección natural pueden determinar la producción de organismos con características nuevas, adaptados a nuevas formas de vida. La teoría de la evolución explica cómo surgió la diversidad entre los organismos que comparten un antepasado común. Al combinarla con la teoría celular, nos ofrece una visión global de la vida, desde sus inicios hasta la actualidad, como un gran árbol genealógico de células individuales. Si bien este libro trata fundamentalmente sobre el funcionamiento celular actual, el tema de la evolución aparecerá una y otra vez.

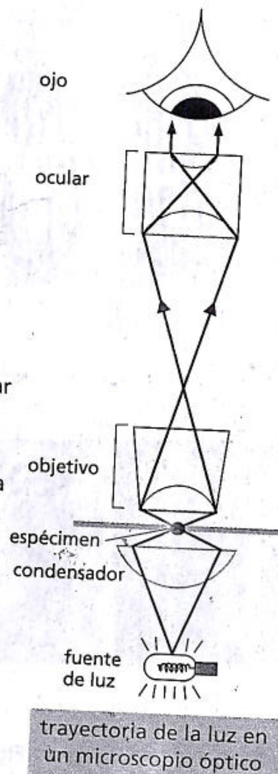
Células, orgánulos e incluso moléculas pueden visualizarse con el microscopio

Si se realiza un corte muy delgado de un tejido vegetal o animal, y se lo coloca bajo el microscopio óptico, se observará que el tejido está dividido en miles de

LÁMINA 1-1 Microscopia

MICROSCOPIO ÓPTICO

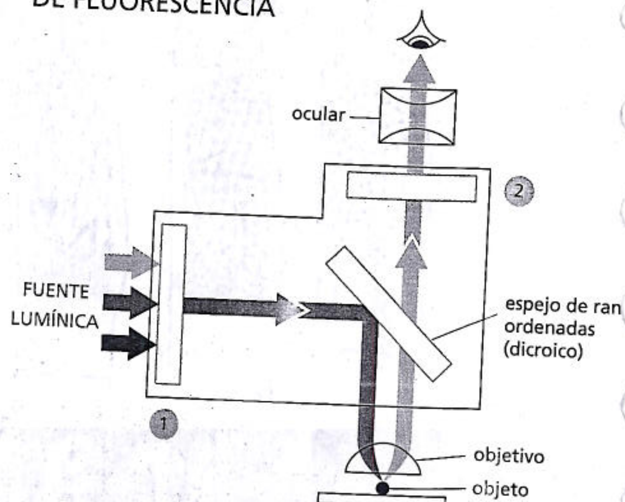




trayectoria de la luz en un microscopio óptico

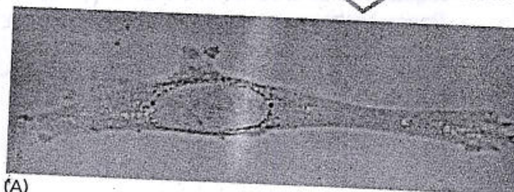
El microscopio óptico permite aumentar las imágenes de las células hasta 1.000 veces y resolver detalles de tan solo 0,2 μm (una limitación impuesta por el carácter ondulatorio de la luz, no por la calidad de las lentes). Se requieren tres elementos para visualizar células en un microscopio óptico. Primero, se debe enfocar una luz brillante sobre el espécimen mediante las lentes del condensador. Segundo, el espécimen debe estar cuidadosamente preparado para permitir que la luz lo atraviese. Tercero, se debe alinear un sistema apropiado de lentes (objetivo y ocular) para enfocar una imagen del espécimen en el ojo.

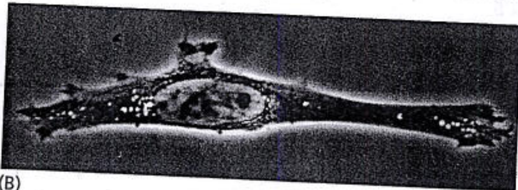
MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

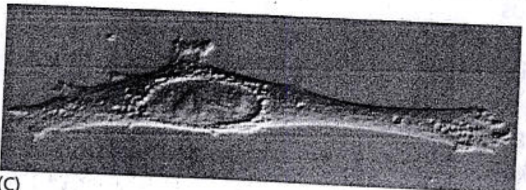


Los colorantes fluorescentes utilizados para teñir las células se detectan con la ayuda de un microscopio de fluorescencia. Éste es similar a un microscopio óptico, excepto que la luz atraviesa dos sistemas de filtros. El primero (1) filtra la luz antes de que alcance el espécimen y sólo deja pasar las longitudes de onda que excitan al colorante fluorescente usado. El segundo (2) bloquea esta luz y sólo deja pasar las longitudes de onda emitidas por el colorante fluorescente. Los objetos teñidos se ven de color brillante sobre un fondo oscuro.

OBSERVACIÓN DE CÉLULAS VIVAS


(A)


(B)

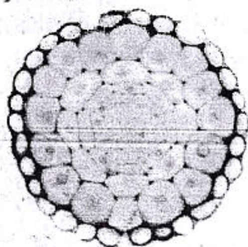

(C)

50 μm

La misma célula animal viva (fibroblasto), no teñida, en cultivo visualizada con (A) microscopio de campo claro, (B) microscopio de contraste de fase, (C) microscopio de contraste de interferencia. Los dos últimos sistemas aprovechan las diferencias con que la luz atraviesa regiones de la célula con diferentes índices de refracción. Las tres imágenes se pueden obtener con el mismo microscopio sólo mediante el intercambio de los componentes ópticos.

MUESTRAS FIJADAS

La mayoría de los tejidos no son lo suficientemente pequeños ni transparentes para realizar un examen microscópico directo. En consecuencia, por lo general se los fija químicamente y se los secciona en cortes muy delgados que pueden ser colocados en un portaobjetos de vidrio y, después, se los tiñe para revelar diferentes componentes de las células. Aquí se muestra un corte teñido de una raíz de una planta (D). (Cortesía de Catherine Kidner).


(D)

50 μm

SONDAS FLUORESCENTES

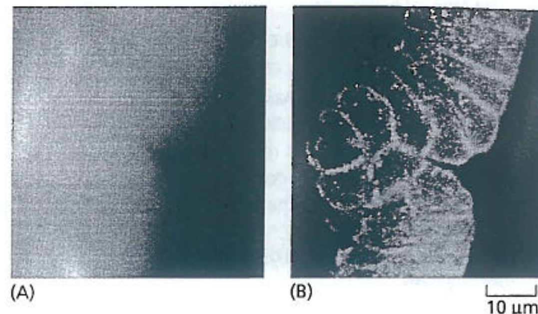
Núcleos en división de un embrión de mosca observado con un microscopio de fluorescencia después de la tinción con colorantes fluorescentes específicos.



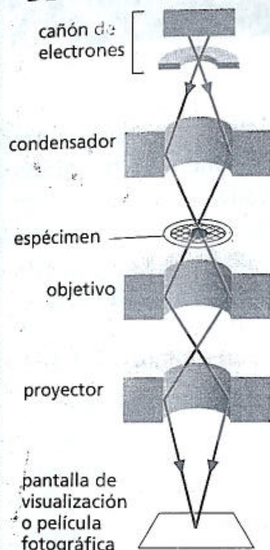
Los colorantes fluorescentes absorben la luz a una longitud de onda y la emiten en otra más larga. Algunos de estos colorantes se unen específicamente a determinadas moléculas de las células y pueden revelar su localización cuando se las examina con un microscopio de fluorescencia. Aquí se muestra el DNA (verde). Otros colorantes se pueden acoplar a moléculas de anticuerpos, que después sirven como reactivos muy específicos y versátiles que se unen selectivamente a macromoléculas particulares, lo que nos permite ver su distribución celular. En el ejemplo presentado, una proteína de microtúbulos del huso mitótico está teñida de rojo con un anticupero fluorescente. (Cortesía de William Sullivan).

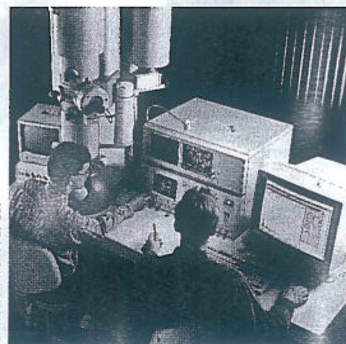
MICROSCOPIO CONFOCAL

El microscopio confocal es un tipo especializado de microscopio de fluorescencia que construye una imagen por barrido del espécimen con un haz láser. El haz se enfoca en un solo punto a una profundidad determinada del espécimen, y un orificio en el detector permite que sólo la fluorescencia emitida desde este mismo punto sea incluida en la imagen. El barrido del haz por el espécimen genera una imagen definida del plano del foco: un corte óptico. Una serie de cortes ópticos a diferentes profundidades permite construir una imagen tridimensional. Aquí se muestra el embrión de un insecto teñido con una sonda fluorescente para actina (una proteína filamentosa). (A) La microscopia de fluorescencia convencional genera una imagen borrosa, debido a la presencia de estructuras fluorescentes por encima y por debajo del plano del foco. (B) La microscopia confocal proporciona un corte óptico que muestra con claridad las células individuales.

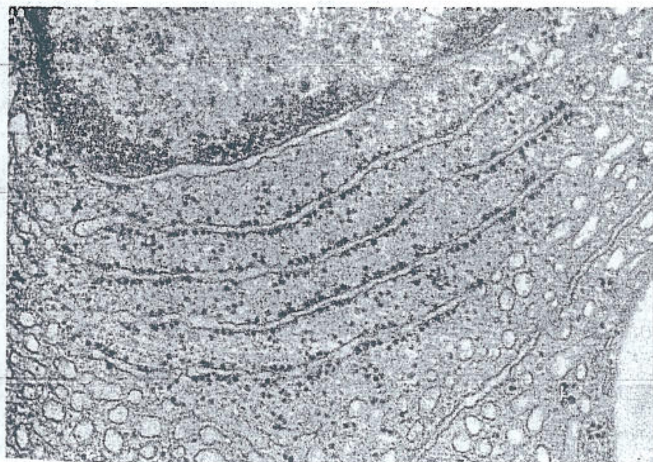


MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN





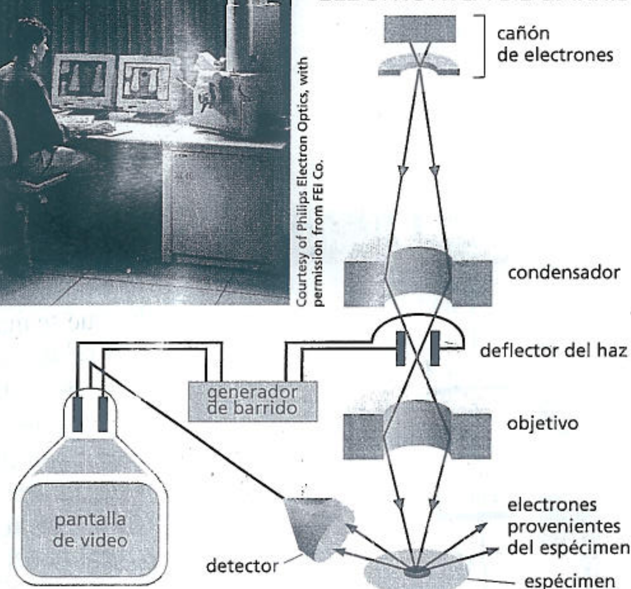
La microfotografía electrónica de abajo muestra una pequeña región de una célula de un fragmento de testículo. El tejido ha sido fijado químicamente, incluido en plástico y seccionado en cortes muy delgados que se tiñieron con sales de uranio y de plomo. (Cortesía de Daniel S. Friend).



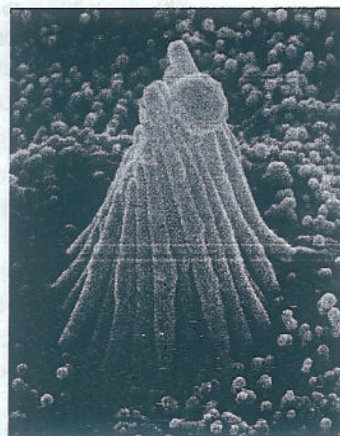
El microscopio electrónico de transmisión (MET) es, en principio, similar a un microscopio óptico, pero emplea un haz de electrones en lugar de un haz de luz, y bobinas magnéticas para enfocar el haz en lugar de lentes de cristal. El espécimen, que se coloca en el vacío, debe ser muy delgado. Por lo general, el contraste se introduce tiñendo el espécimen con metales pesados electrodensos que absorben o dispersan localmente electrones y los eliminan del haz cuando éste atraviesa la muestra. El MET tiene un aumento útil de hasta un millón de veces y, en muestras biológicas, puede resolver detalles de tan solo alrededor de 2 nm.

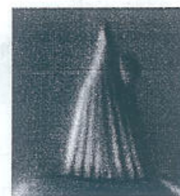
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO





En el microscopio electrónico de barrido (MEB), el espécimen, que ha sido cubierto con una película muy delgada de un metal pesado, es barrido por un haz de electrones dirigido a un foco por bobinas electromagnéticas que, en estos microscopios, actúan como lentes. La cantidad de electrones dispersados o emitidos mientras el haz bombardea cada punto sucesivo de la superficie del espécimen se mide mediante el detector, y se la usa para controlar la intensidad de los puntos sucesivos en una imagen reconstruida en una pantalla de video. El microscopio genera imágenes llamativas de objetos tridimensionales con gran profundidad de foco y puede resolver detalles en un rango de 2 a 20 nm, lo que depende del aparato.





Microfotografía electrónica de barrido de los estereocilios que se proyectan de una célula ciliada del oído interno (izquierda). Con fines comparativos, se muestra la misma estructura visualizada por microscopia óptica en el límite de su resolución (arriba). (Cortesía de Richard Jacobs y James Hudspeth).

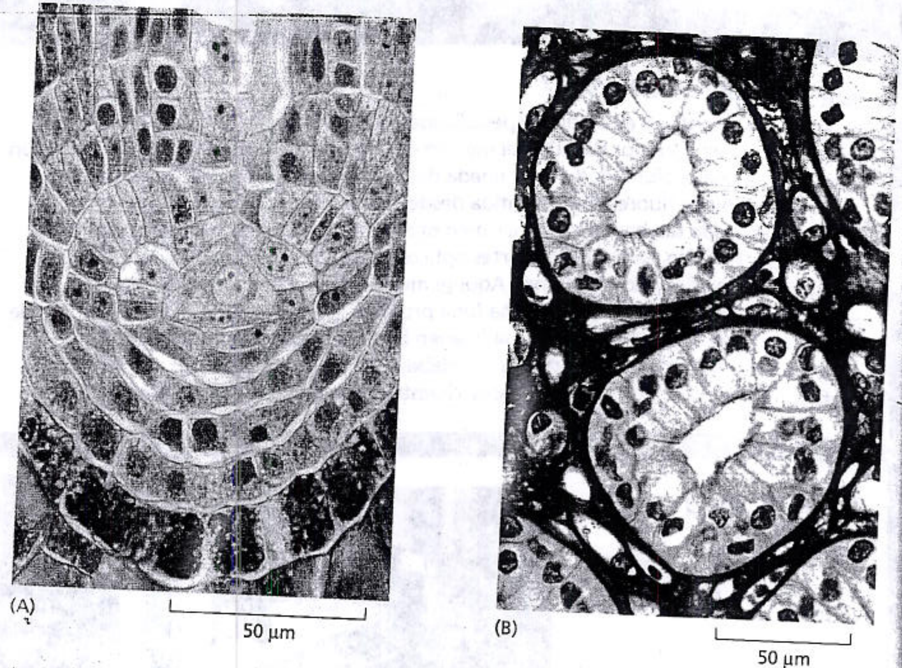


Figura 1-5. Las células forman tejidos vegetales y animales. (A) Células del extremo de la raíz de un helecho. Los núcleos están teñidos de *rojo* y cada célula está rodeada por una delgada pared celular (*azul*). (B) Células de los túbulos colectores del riñón. En este corte transversal, cada túbulo aparece como un anillo de células estrechamente agrupadas (con los núcleos teñidos de *rojo*). El anillo está rodeado de matriz extracelular, teñida de *púrpura* (A, cortesía de James Mauseth; B, de P.R. Wheather y col., *Functional Histology*, 2.ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1987. Con autorización de Elsevier).

células pequeñas. Éstas pueden estar estrechamente adosadas o separadas entre sí por una *matriz extracelular*, un material denso formado a menudo por fibras proteicas embebidas en un gel de polisacáridos (Fig. 1-5). Cada célula suele tener de 5 a 20 µm de diámetro (Fig. 1-6). Si se tuvo el cuidado de mantener la muestra en condiciones adecuadas, se verá que muestran signos de vida: hay partículas que se mueven dentro de ellas y, si se observa con paciencia, se podrá ver que una célula cambia de forma con lentitud y se divide en dos (véase Fig. 1-4 y el video acelerado de la división celular de un embrión de rana en la Película 1.1).

Es difícil observar la estructura interna de una célula, no sólo porque sus componentes son diminutos, sino también porque son transparentes y, en su mayor parte, incoloros. Un enfoque consiste en utilizar colorantes que tiñen los componentes celulares en forma diferencial (véase Fig. 1-5). Como alternativa, se puede aprovechar el hecho de que los componentes celulares tienen índices de refracción ligeramente distintos, como el cristal del agua, lo que determina que los rayos lumínicos se desvíen al pasar de un medio a otro. Las pequeñas diferencias del índice de refracción pueden ser percibidas mediante técnicas ópticas especializadas, y las imágenes resultantes se pueden intensificar aún más por procesamiento electrónico (véase Lámina 1-1, pp. 8-9).

La célula revelada de este modo presenta una anatomía particular (Fig. 1-7). Tiene límites bien definidos, que indican la existencia de una membrana de envoltura. En el centro, se destaca un cuerpo redondeado y grande, el *núcleo*. Alrededor de éste y ocupando el interior de la célula se encuentra el **citoplasma**, una sustancia transparente atestada de lo que, en principio, parece ser una mezcla de estructuras heterogéneas. Con un buen microscopio óptico, se puede comenzar a percibir y clasificar componentes específicos del citoplasma (Fig. 1-7B). Sin embargo, las estructuras de menos de 0,2 µm –alrededor de la mitad de la longitud de onda de la luz visible– no se pueden distinguir (los puntos separados por una distancia menor a ésta no son discernibles y aparecen como una mancha única).

En los últimos años, se han desarrollado nuevos tipos de microscopios fluorescentes, que utilizan métodos de iluminación y análisis de imágenes complejos para visualizar detalles varias veces más sutiles que esto. Sin embargo, para obtener el máximo aumento y la mejor resolución, se debe recurrir al microscopio electrónico, que puede revelar detalles de hasta unos pocos **nanómetros** (nm) (véase Fig. 1-6). Las muestras de células para el microscopio electrónico requieren una preparación cuidadosa. Más aun, para la microscopia óptica, en general se debe *fijar* el tejido (es decir, preservarlo mediante su inmersión en una solución química reactiva), sostenerlo mediante *inclusión* en una cera o resina sólida, se lo debe

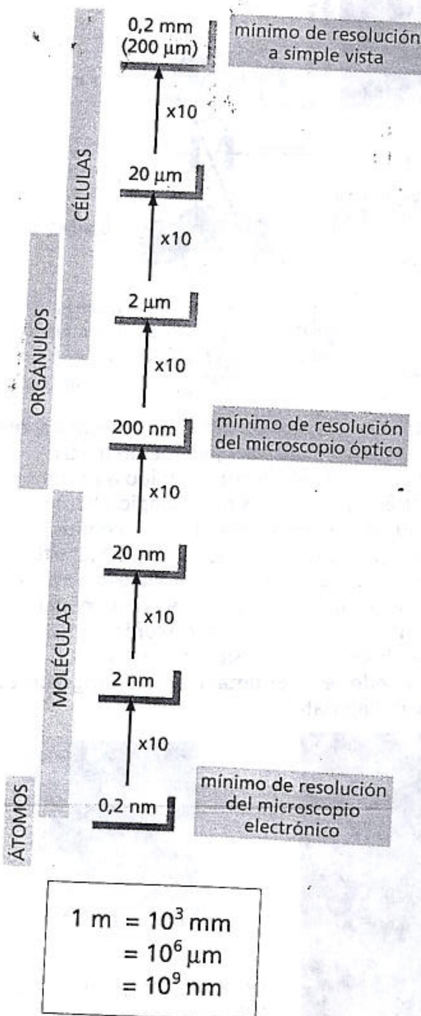
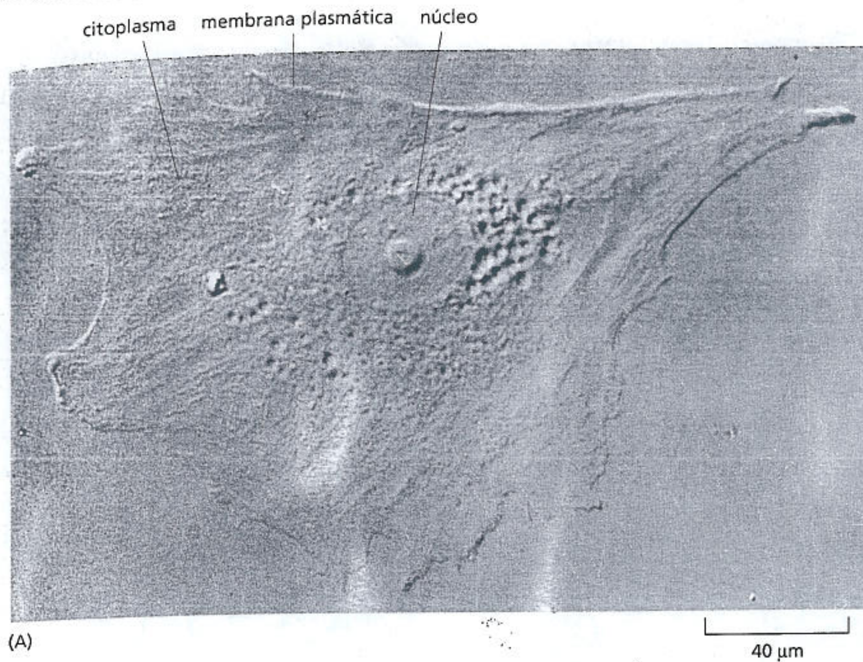


Figura 1-6. ¿Qué podemos observar? Este esquema indica los tamaños de las células y de sus componentes, y las unidades utilizadas para su medición.



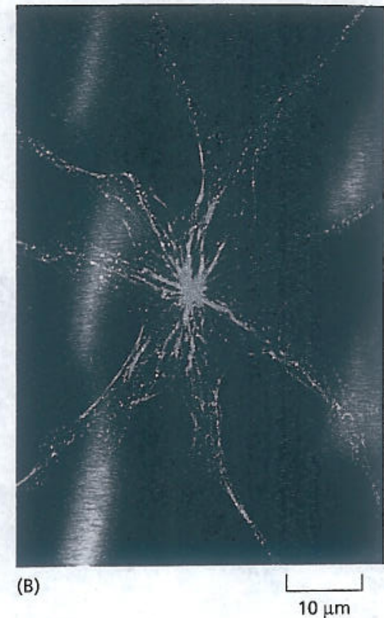


Figura 1-7. Las estructuras internas de una célula viva se pueden observar con el microscopio óptico. (A) Célula de la piel humana proveniente de un histocultivo fotografiada con un microscopio óptico utilizando óptica de contraste de interferencia (véase Lámina 1-1, pp. 8-9). El núcleo es particularmente prominente. (B) Célula pigmentaria de una rana, teñida con colorantes fluorescentes y visualizada con una microscopia confocal (véase Lámina 1-1). El núcleo se muestra en *azul*, los gránulos de pigmento en *rojo* y los microtúbulos –una clase de filamentos formados por moléculas de proteína del citoplasma– en *verde*. (A, cortesía de Casey Cunningham; B, cortesía de Steve Rogers e Imaging Technology Group).

seccionar en cortes finos, que se *tiñen* antes de su observación. Para el examen con el microscopio electrónico, se requieren procedimientos similares, pero los cortes deben ser mucho más delgados y no existe la posibilidad de observar células vivas hidratadas.

Cuando los cortes delgados son seccionados, teñidos y observados con el microscopio electrónico, gran parte de la mezcla de componentes celulares se reconocen con nitidez como orgánulos diferenciados: subestructuras separadas, discernibles, que sólo tienen una definición vaga con el microscopio óptico. Se visualiza una membrana delicada, de alrededor de 5 nm de espesor, que rodea a la célula, y se aprecian otras membranas similares que delimitan a muchos de los orgánulos del interior (Fig. 1-8A, B). La membrana externa se denomina *membrana plasmática*, mientras que las membranas que rodean a los orgánulos reciben el nombre de *membranas internas*. Con el microscopio electrónico, se pueden observar incluso algunas de las grandes moléculas individuales de una célula (Fig. 1-8C).

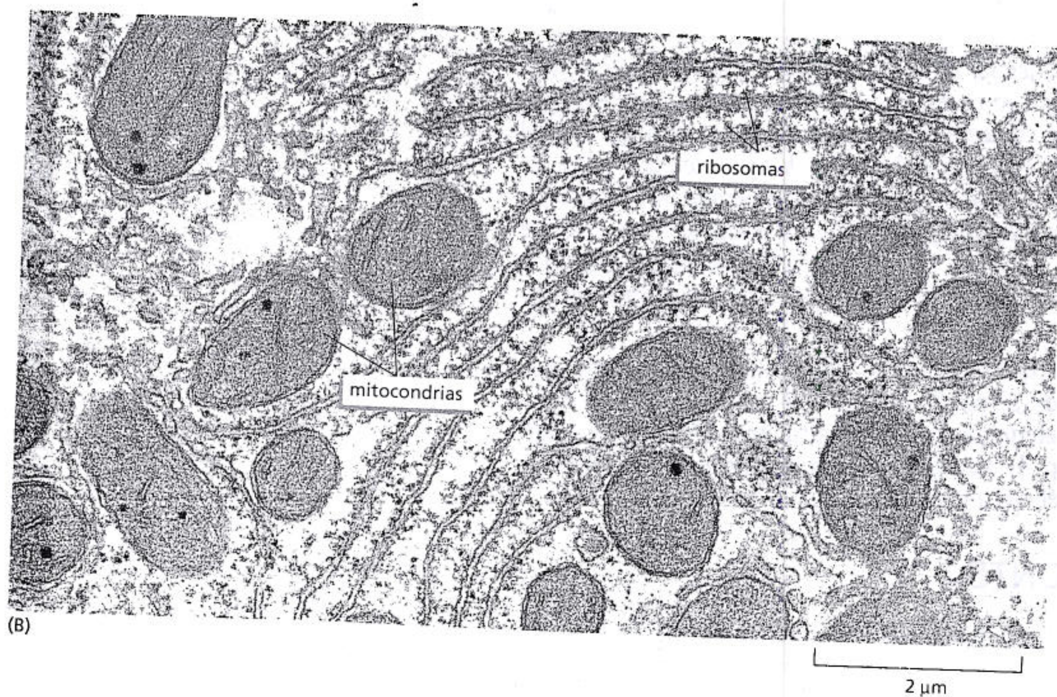
El tipo de microscopio electrónico utilizado para observar estos cortes finos de tejido se conoce como *microscopio electrónico de transmisión*. En principio, es similar al microscopio óptico, excepto que transmite un haz de electrones en lugar de un haz de luz a través de la muestra. Otro tipo de microscopio electrónico –el *microscopio electrónico de barrido*– dispersa electrones de la superficie de la muestra, por lo cual se utiliza para observar con detalle la superficie de las células y la de otras estructuras (véase Lámina 1-1, pp. 8-9). La microscopia electrónica permite a los biólogos observar la estructura de las membranas biológicas, que tienen sólo dos moléculas de espesor (descritas en detalle en el Cap. 11). Sin embargo, incluso los microscopios electrónicos más potentes no permiten visualizar los átomos individuales que constituyen las moléculas (Fig. 1-9).

El microscopio no es el único medio que utilizan los biólogos modernos para estudiar en detalle los componentes celulares. Se pueden aplicar técnicas como la cristalografía de rayos X, por ejemplo, para determinar la estructura tridimensional de las moléculas proteicas (analizada en el Cap. 4). Se describirán otros métodos para investigar el funcionamiento interno de las células a medida que aparezcan en el texto.

LA CÉLULA PROCARIONTE

De todos los tipos de células reveladas por el microscopio, las *bacterias* tienen la estructura más simple y son las que más se acercan a mostrar lo esencial de

membrana plasmática
núcleo
retículo endoplasmático
mitocondria
peroxisoma
lisosoma
(A)
2 µm



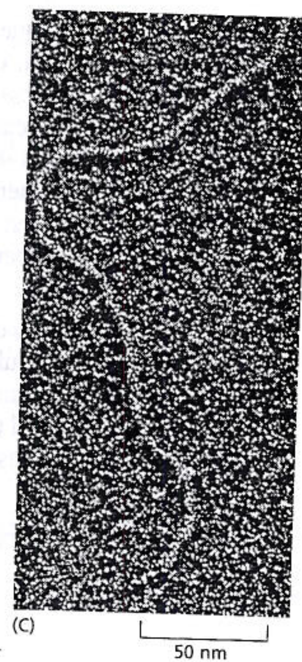


Figura 1-8. ***(Página opuesta).*** **Se puede observar la ultraestructura de una célula con el microscopio electrónico de transmisión.** (A) Corte delgado de una célula hepática que muestra la enorme cantidad de detalles visibles. Se han señalado algunos de los componentes que se analizarán más adelante en el capítulo; son identificables por su tamaño y forma. (B) Una pequeña región del citoplasma con mayor aumento. Las estructuras más pequeñas que son claramente visibles corresponden a los ribosomas, cada uno de ellos integrado por alrededor de 80 a 90 macromoléculas individuales. (C) Porción de una molécula filiforme de DNA aislada de una célula y visualizada con el microscopio electrónico. (A y B, cortesía de Daniel S. Friend; C, cortesía de Mei Lie Wong).

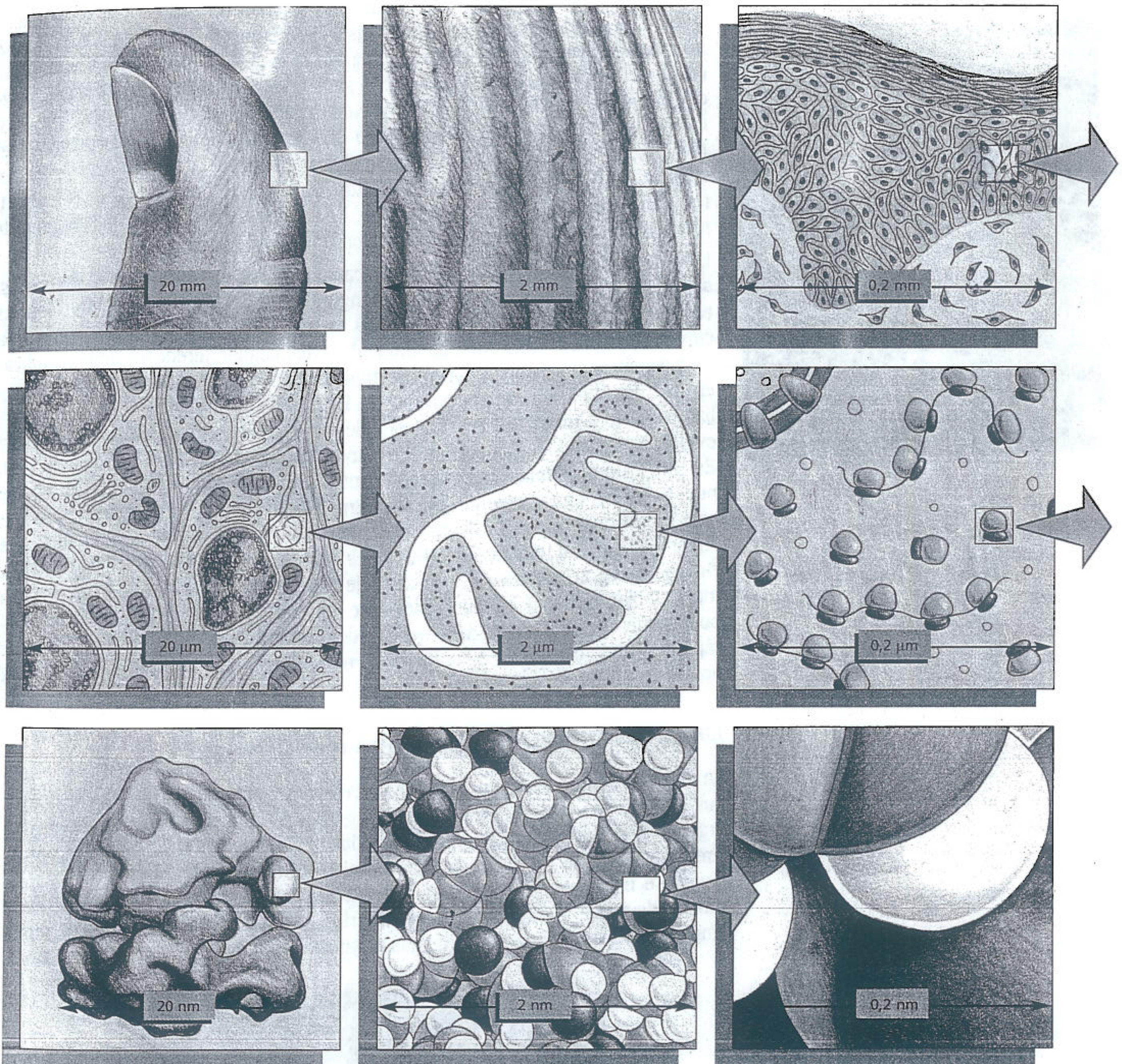
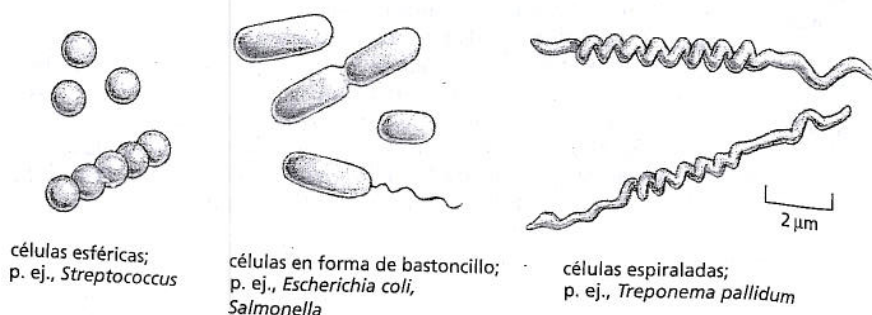


Figura 1-9. ¿Qué tamaño alcanzan la célula y sus componentes? Este diagrama da una idea de la escala entre las células vivas y los átomos. Cada recuadro muestra una imagen que luego es aumentada 10 veces en una progresión imaginaria desde el pulgar, pasando por células cutáneas, una mitocondria, un ribosoma y, por último, un grupo de átomos que forman parte de una de las muchas moléculas de proteínas de nuestro organismo. Los detalles de la estructura molecular, ilustradas en los dos últimos recuadros, están por debajo del poder de resolución del microscopio electrónico.

Figura 1-10. Las bacterias tienen diferentes formas y tamaños. Dibujos en escala que muestran bacterias esféricas, en bastoncillos y espiraladas típicas. Las células espiraladas ilustradas son los microorganismos que causan la sífilis.



PREGUNTA 1-4

Una bacteria pesa alrededor de 10^{-12} g y se puede dividir cada 20 minutos. Si una sola célula bacteriana se sigue dividiendo a esa velocidad, ¿cuánto tardaría hasta que la masa de bacterias igualara la de la Tierra (6×10^{24} kg)? Contraponga su resultado con el hecho de que las bacterias se originaron por lo menos hace 3.500 millones de años y se están dividiendo desde entonces. Explique la paradoja evidente. (La cantidad de células N de un cultivo en el tiempo t es descrita por la ecuación $N = N_0 \times 2^{t/G}$, donde N_0 es el número de células en el tiempo 0 y G es el tiempo de duplicación de la población).

la vida. Una bacteria no tiene orgánulos, ni siquiera un núcleo que contenga su DNA. Esta propiedad –la presencia o ausencia de núcleo– se utiliza como base de una clasificación simple, pero fundamental, de todos las organismos vivos. Los organismos cuyas células tienen núcleo se denominan **eucariontes** (del griego *eu*, que significa "bien" o "verdadero", y *karyon*, "grano" o "núcleo"). Los organismos cuyas células no tienen un núcleo diferenciado se denominan **procariontes** (de *pro*, que significa "antes"). Los términos "bacteria" y "procarionte" con frecuencia se utilizan como sinónimos, aunque se verá que la categoría de procariontes también abarca otra clase de células, las *arqueas*, que están tan remotamente relacionadas con las bacterias que reciben un nombre distinto.

Los procariontes suelen ser esféricos, bastoniformes o espiralados y pequeños, sólo de unos pocos micrómetros de longitud (Fig. 1-10), aunque hay algunas especies gigantes que miden hasta 100 veces más. Con frecuencia, tienen una cubierta protectora resistente, denominada pared celular, alrededor de la membrana plasmática, que rodea a un compartimiento único que contiene el citoplasma y el DNA. En el microscopio electrónico, el interior de la célula en general se visualiza como una matriz de textura variable sin una estructura interna organizada evidente (Fig. 1-11). Las células se reproducen con rapidez por división en dos. En condiciones óptimas, cuando el alimento es abundante, la célula procarionte se puede duplicar en tan solo 20 minutos. En 11 horas, por divisiones reiteradas, un solo procarionte puede dar lugar a una progenie de más de 8.000 millones (que supera la cantidad total de seres humanos que habitan la Tierra en la actualidad). Gracias a su gran número, su velocidad de crecimiento rápida y su capacidad para intercambiar material genético mediante un proceso semejante al sexual, las poblaciones de células procariontes pueden evolucionar con rapidez y adquirir rápidamente la capacidad de utilizar una nueva fuente alimentaria o de resistir la acción de un nuevo antibiótico.

Las procariontes son las células más diversas

La mayoría de las células procariontes viven como organismos unicelulares, aunque algunos se unen y forman cadenas, grupos u otras estructuras pluricelulares organizadas. Por su forma y estructura, las células procariontes pueden parecer simples y limitadas, pero en términos químicos constituyen la clase de células más diversa e ingeniosa. Aprovechan una extensa gama de hábitat, desde charcos cálidos de barro volcánico hasta el interior de otras células vivas, y superan ampliamente en cantidad a los demás organismos vivientes de la Tierra. Algunas

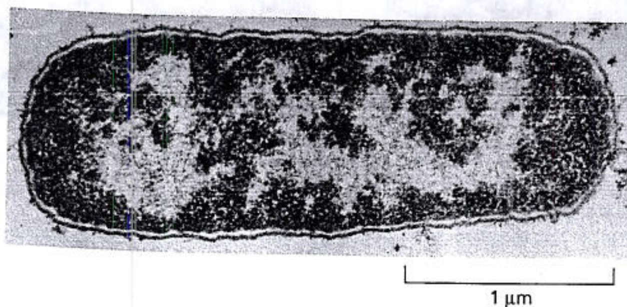


Figura 1-11. La bacteria *Escherichia coli (E. coli)* es el mejor conocido de los organismos vivos. Aquí se muestra una electromicrofotografía de un corte longitudinal; el DNA de la célula está concentrado en la región más clara. (Cortesía de E. Kellenberger).



Figura 1-12. Algunas bacterias son fotosintéticas. (A) *Anabaena cylindrica* forma filamentos pluricelulares largos. Esta microfotografía óptica muestra células especializadas que fijan nitrógeno (es decir, capturan el N_2 atmosférico y lo incorporan a compuestos orgánicos; marcados con H), fijan CO_2 (mediante la fotosíntesis; V) o se convierten en esporas resistentes (S). (B) La electromicrofotografía de una especie relacionada, *Phormidium laminosum*, muestra las membranas intracelulares en donde se produce la fotosíntesis. Obsérvese que incluso algunos procariontes pueden formar organismos pluricelulares simples. (A, cortesía de David Adams; B, cortesía de D.P. Hill y C.J. Howe).

son aerobias, por lo que utilizan el oxígeno para oxidar las moléculas de alimentos; otras son estrictamente anaerobias y mueren por la más leve exposición al oxígeno. Como se analizará más adelante en este capítulo, se cree que las *mitocondrias* –los orgánulos que generan energía en la célula eucarionte– evolucionaron a partir de las bacterias aerobias que vivieron en el interior de los antepasados anaerobios de las células eucariontes de la actualidad. Así, nuestro metabolismo basado en el oxígeno puede ser considerado como un producto de las actividades de las células bacterianas.

Casi cualquier material orgánico, de la madera al petróleo, puede ser utilizado como alimento por un tipo de bacterias o por otro. Aún más destacable, algunos procariontes pueden vivir íntegramente de sustancias inorgánicas: pueden obtener el carbono del CO_2 de la atmósfera, el nitrógeno del N_2 atmosférico, y el oxígeno, el hidrógeno, el azufre y el fósforo del aire, el agua y los minerales inorgánicos. Algunas de estas células procariontes, como las vegetales, realizan *fotosíntesis* y obtienen energía de la luz solar (Fig. 1-12); otras producen energía a partir de la reactividad química de sustancias inorgánicas del medio ambiente (Fig. 1-13). En cualquier caso, estos procariontes desempeñan un papel único y fundamental en la economía de la vida en la Tierra: otros organismos vivos dependen de los compuestos orgánicos que estas células generan a partir de materiales inorgánicos.

Las plantas también pueden capturar energía de la luz solar y carbono del CO_2 atmosférico. No obstante, sin la ayuda de las bacterias, no pueden captar el N_2 de la atmósfera y, en cierto sentido, incluso dependen de las bacterias para la fotosíntesis. Es casi seguro que los orgánulos de la célula vegetal que realizan la fotosíntesis –los cloroplastos– evolucionaron a partir de bacterias fotosintéticas que habitaron el citoplasma de la célula vegetal.

El mundo de los procariontes se divide en dos dominios: eubacterias y arqueas

Tradicionalmente, todos los procariontes se clasificaron en un gran grupo. Pero los estudios moleculares revelan que hay una brecha en la clase de procariontes, que la divide en dos *dominios* diferentes, denominados **bacterias** (o, a veces, eubacterias) y **arqueas**. Cabe destacar que, en el nivel celular, los miembros de estos dos dominios se diferencian tanto entre sí como de los organismos eucariontes. La mayoría de los procariontes familiares de la vida cotidiana –las especies que habitan en el suelo o que provocan enfermedades– son bacterias. Las arqueas se encuentran no sólo en estos hábitats, sino también en medios hostiles para la mayoría de las demás células: hay especies que viven en salmuera, en fuentes

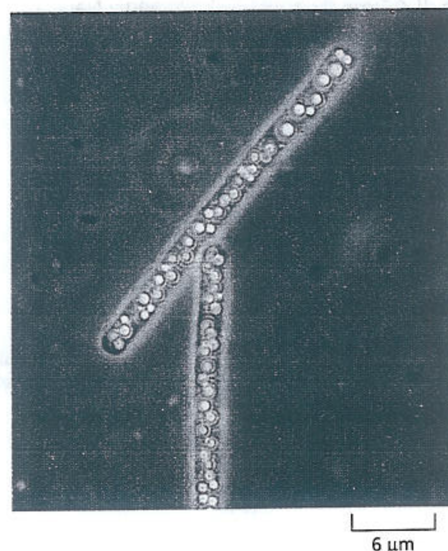


Figura 1-13. Una bacteria azufrada obtiene su energía de H_2S. *Beggiatoa*, un procarionte que vive en medios sulfurosos, oxida el H_2S y puede fijar carbono incluso en la oscuridad. En esta microfotografía óptica, se observan depósitos amarillos de azufre en el interior de las células. (Cortesía de Ralph W. Wolfe).

volcánicas de ácido caliente, profundidades de los sedimentos marinos sin aire, barro de las plantas de tratamiento de aguas servidas, estanques por debajo de la superficie congelada de la Antártida y, en el medio ácido carente de oxígeno del estómago de la vaca, donde descomponen la celulosa y generan gas metano. Muchos de estos ambientes se asemejan a las condiciones rigurosas que deben haber existido en la Tierra primitiva, donde los organismos vivos comenzaron a evolucionar antes de que la atmósfera se tornara rica en oxígeno.

LA CÉLULA EUCARIONTE

Por lo general, las células eucariontes son más grandes y más complejas que las bacterias y las arqueas. Algunas tienen una vida independiente como organismos unicelulares, como las amebas y las levaduras (Fig. 1-14); otras, forman agrupaciones pluricelulares. Los organismos pluricelulares más complejos –p. ej., las plantas, los animales y los hongos– están formados por células eucariontes.

Por definición, todas las células eucariontes tienen un núcleo. Pero la presencia del núcleo conlleva la existencia de una variedad de otros orgánulos, estructuras subcelulares que cumplen funciones especializadas. La mayoría estas estructuras también son comunes a todos estos organismos eucariontes. A continuación, se analizarán desde el punto de vista de sus funciones los orgánulos principales que se encuentran en las células eucariontes.

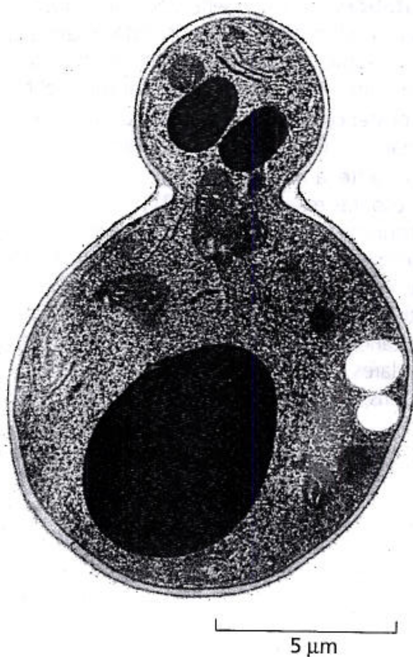
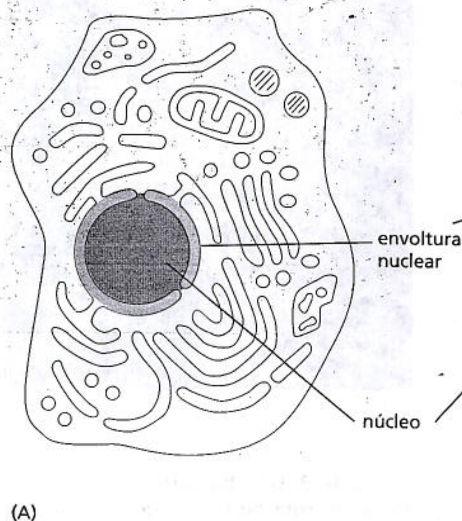


Figura 1-14. Las levaduras son eucariontes simples de vida libre. La célula que se observa en esta microfotografía óptica pertenece a la misma especie, *Saccharomyces cerevisiae*, que permite que la masa leude y que la malta de cebada se transforme en cerveza. Se reproduce mediante gemación y la posterior división asimétrica en dos células hijas, una grande y otra pequeña. Estas dos células tienen un solo núcleo (tinción oscura), pero en la célula hija pequeña de este ejemplo particular, el núcleo es de forma irregular y el plano de sección lo ha cortado en dos regiones separadas. (Cortesía de Soren Mogelsvang y Natalia Gómez-Ospina).



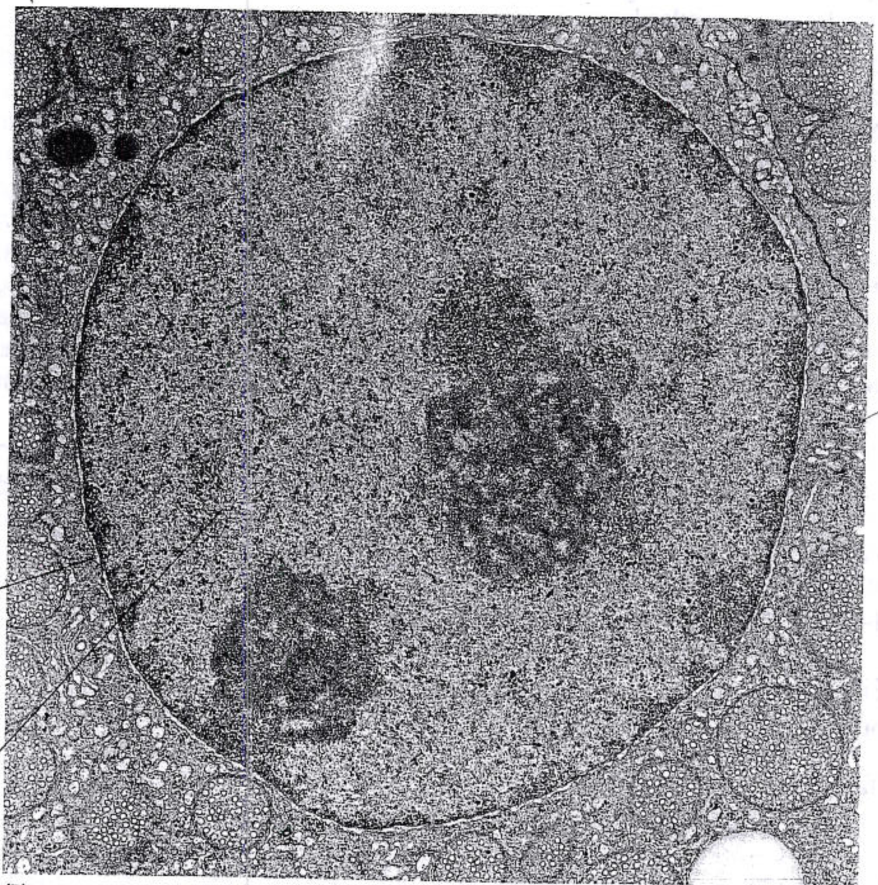


Figura 1-15. El núcleo contiene la mayor parte del DNA de una célula eucarionte. (A) En este dibujo de una célula animal típica –completa con su extenso sistema de orgánulos rodeados de membranas–, el núcleo es de color *marrón*, la envoltura nuclear es *verde* y el citoplasma (el interior de la célula fuera del núcleo) es *blanco*. (B) Microfotografía electrónica de un núcleo de una célula de mamífero. No se visualizan los cromosomas individuales porque el DNA está disperso en forma de fibras finas por todo el núcleo en esta etapa del crecimiento celular. (B, cortesía de Daniel S. Friend).

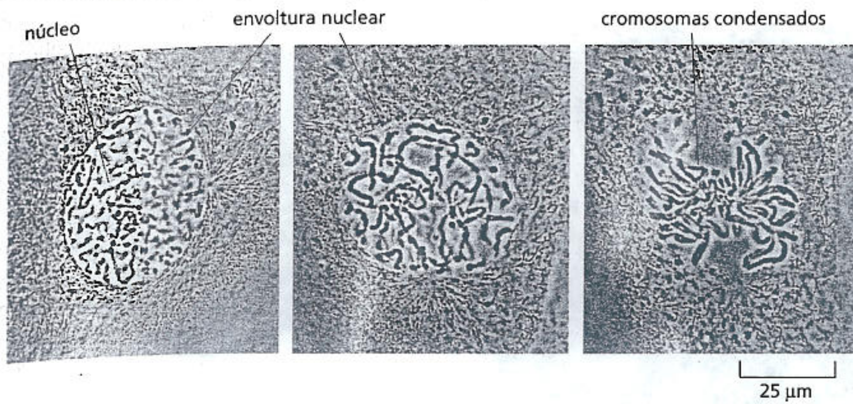


Figura 1-16. Los cromosomas se tornan visibles cuando la célula está a punto de dividirse. Cuando una célula se prepara para la división, su DNA se condensa o compacta en cromosomas filiformes que pueden ser observados con el microscopio óptico. Las fotografías muestran tres pasos sucesivos del proceso en una célula cultivada de pulmón de tritón. (Cortesía de Conly L. Rieder).

El núcleo es el depósito de información de la célula

El núcleo suele ser el orgánulo más destacado de la célula eucarionte (Fig. 1-15). Está rodeado por dos membranas concéntricas que forman la *envoltura nuclear*, y contiene moléculas de DNA: polímeros muy largos que codifican la información genética del organismo. En el microscopio óptico, estas moléculas de DNA gigantes son visibles como **cromosomas** individuales cuando se condensan mientras la célula se prepara para dividirse en dos células hijas (Fig 1-16). El DNA también almacena la información genética de las células procariontes; estas células carecen de un núcleo definido, no porque no tengan DNA, sino porque no lo guardan en el interior de una envoltura nuclear separado del resto del contenido celular.

Las mitocondrias generan energía utilizable del alimento para proporcionársela a la célula

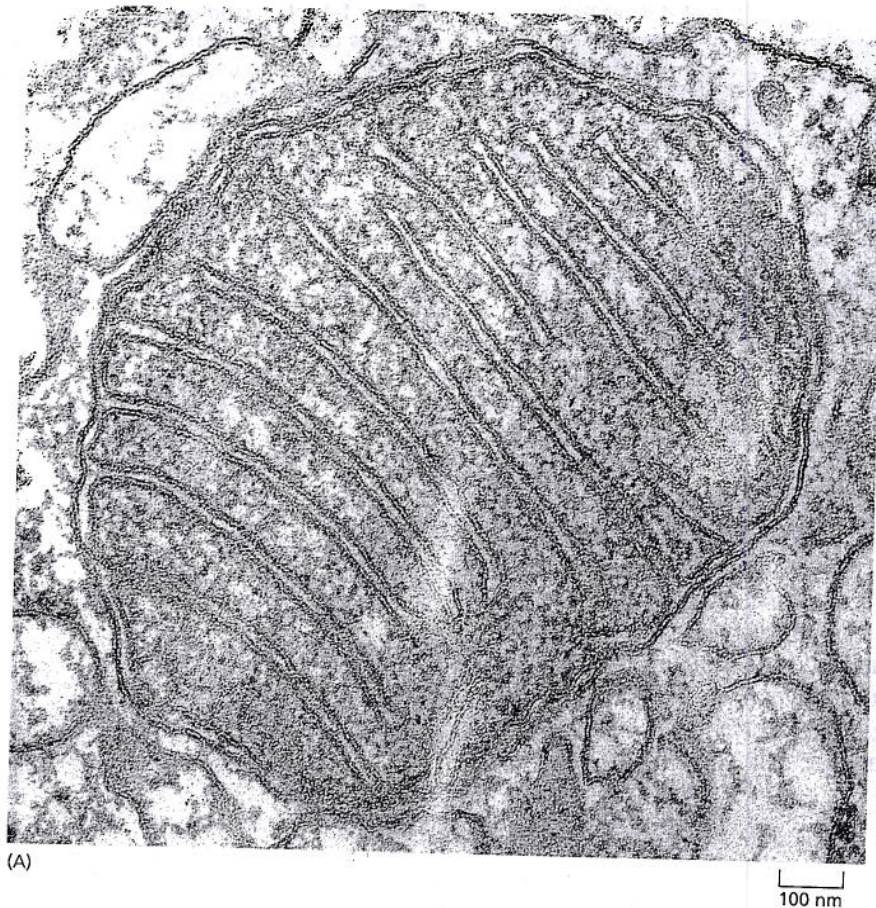
Las **mitocondrias** están presentes en casi todas las células eucariontes y son uno de los orgánulos más destacados (Fig. 1-17). Tienen una estructura muy característica cuando se los visualiza con el microscopio electrónico: cada mitocondria tiene forma de salchicha o de gusano, mide entre uno y muchos micrómetros y se halla rodeada de dos membranas separadas. La membrana interna presenta pliegues que se proyectan hacia el interior (Fig. 1-18). Las mitocondrias contienen su propio DNA y se reproducen dividiéndose en dos. Como se asemejan a las bacterias en muchos aspectos, se cree que provienen de bacterias que fueron fagocitadas por algún antepasado de las células eucariontes actuales (Fig 1-19). Es evidente que esto creó una relación *simbiótica*, en la que la célula eucarionte hospedadora y la bacteria incorporada se ayudaron mutuamente para sobrevivir y reproducirse.

La observación microscópica por sí sola aporta escasa información sobre la función de las mitocondrias. Ésta se descubrió al fragmentar las células y centrifugar los fragmentos, proceso que separa a los orgánulos según su tamaño, forma y densidad. Después, se estudiaron las mitocondrias purificadas para determinar qué procesos químicos podían realizar. Los resultados revelaron que las mitocondrias generan energía química para la célula. Obtienen la energía de la oxidación de las moléculas de alimentos, como los azúcares, y producen *adenosina trifosfato*, o ATP, el combustible químico básico de la mayor parte de las actividades celulares. Como la mitocondria consume oxígeno y libera dióxido de carbono durante esta actividad, el proceso completo se denomina *respiración celular*: esencialmente, respirar en el nivel celular. El proceso de la respiración celular se considera con mayor detalle en el capítulo 14.

Sin mitocondrias, los animales, los hongos y las plantas serían incapaces de utilizar el oxígeno para extraer la máxima cantidad de energía de las moléculas de alimentos que los nutren. El oxígeno sería tóxico para ellos, en lugar de una necesidad esencial: es decir, serían *anaerobios*. Muchos procariontes son anaerobios, e incluso hay algunos eucariontes anaerobios, como el parásito intestinal *Giardia* que carece de mitocondrias y sólo vive en medios pobres en oxígeno.



Figura 1-17. Las mitocondrias pueden tener forma variable. En esta microfotografía óptica de una célula de mamífero cultivada, las mitocondrias están teñidas de *verde* con un colorante fluorescente y tienen una forma similar a la de un gusano. El núcleo está teñido de *azul*. Las mitocondrias son generadores de energía en la célula. Estos orgánulos, visualizados con el microscopio óptico, son generadores de energía que oxidan las moléculas de alimento y producen energía química útil en casi todas las células eucariontes. (Cortesía de Lan Bo Chen).



(B)

(C)

Figura 1-18. Las mitocondrias tienen una estructura característica. (A) Microfotografía electrónica de un corte transversal de una mitocondria que revela el gran plegamiento de la membrana mitocondrial. (B) Esta representación tridimensional de la organización de las membranas mitocondriales muestra la membrana externa lisa y la membrana interna notablemente convoluta. La membrana interna contiene la mayoría de las proteínas responsables de la respiración celular y está sumamente plegada proporcionando una gran superficie para esta actividad. (C) En este esquema de la célula, el espacio interior de la mitocondria está coloreado. (A, cortesía de Daniel S. Friend).

Los cloroplastos capturan la energía de la luz solar

Los cloroplastos son orgánulos verdes, grandes, que se encuentran sólo en las células de plantas y algas, no en las células de animales ni de hongos. Tienen una estructura aún más compleja que la de las mitocondrias: además de las dos membranas que los rodean, presentan membranas internas apiladas que contienen el pigmento verde *clorofila* (Fig. 1-20). Cuando se mantiene una planta en la oscuridad, su color verde desaparece; cuando se la coloca otra vez en la luz, vuelve a aparecer. Esto sugiere que la clorofila –y los cloroplastos que la contienen– son cruciales para la relación especial que tienen las plantas y las algas con la luz. Pero, ¿cuál es esta relación?

Todos los animales y las plantas necesitan energía para vivir, crecer y reproducirse. Los animales pueden utilizar sólo la energía química que obtienen alimentán-

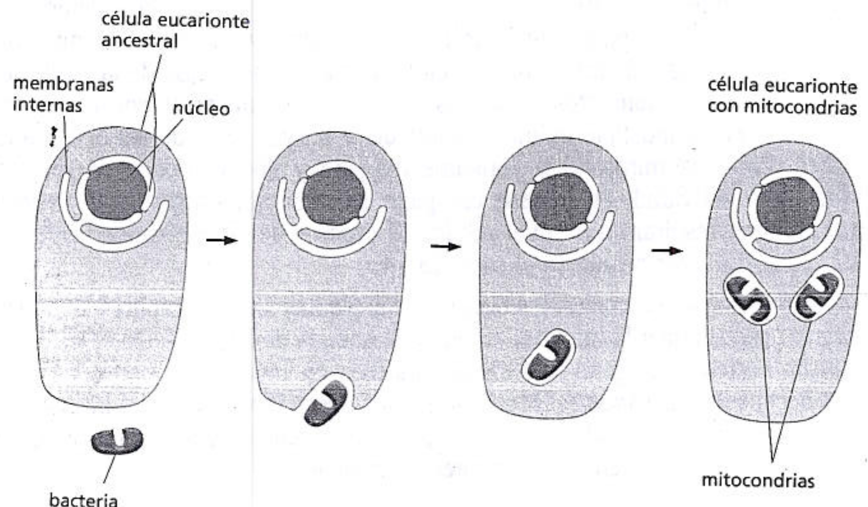


Figura 1-19. Lo más probable es que las mitocondrias hayan evolucionado a partir de bacterias fagocitadas. Existe casi la certidumbre de que las mitocondrias se originaron a partir de bacterias que fueron fagocitadas por una célula eucarionte ancestral y que sobrevivieron en su interior manteniendo una relación simbiótica con el hospedador.

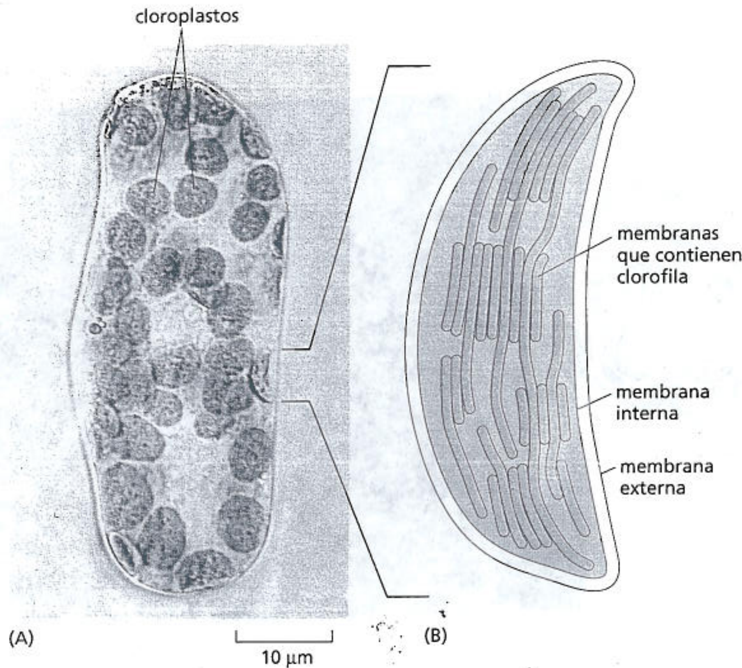


Figura 1-20. Los cloroplastos de las células vegetales capturan la energía de la luz solar. (A) Una sola célula aislada de una hoja de una planta que florece, visualizada con un microscopio óptico, que muestra muchos cloroplastos verdes. (B) Dibujo de uno de los cloroplastos, que muestra el sistema de membranas internas altamente plegadas que contienen las moléculas de clorofila verdes que absorben energía lumínica. (A, cortesía de Preeti Dahiya).

dose de los productos de otros seres vivos. En cambio, las plantas pueden obtener su energía directamente de la luz solar, y los cloroplastos son los orgánulos que les permiten hacerlo. Desde el punto de vista de la vida en la Tierra, los cloroplastos realizan una tarea aún más esencial que la de las mitocondrias: realizan fotosíntesis; es decir, capturan la energía de la luz solar en moléculas de clorofila y la utilizan para elaborar moléculas de azúcar ricas en energía. En el proceso, liberan oxígeno como un derivado molecular. Después, las células vegetales pueden extraer esta energía química almacenada cuando la necesitan mediante la oxidación de los azúcares de sus mitocondrias, al igual que las células animales. Así, los cloroplastos generan las moléculas de alimento y también el oxígeno que todas las mitocondrias utilizan. En el capítulo 14 se explica cómo lo hacen.

Al igual que las mitocondrias, los cloroplastos contienen su propio DNA, se reproducen por división binaria, y se cree que evolucionaron a partir de las bacterias; en este caso, de bacterias fotosintéticas incorporadas de alguna manera por una célula eucarionte primitiva (Fig. 1-21).

PREGUNTA 1-5

De acuerdo con la figura 1-19, ¿por qué la mitocondria tiene una membrana externa y una membrana interna? ¿Cuál de las dos membranas mitocondriales debería derivar –en términos evolutivos– de la membrana de la célula eucarionte ancestral? En la microfotografía electrónica de una mitocondria de la figura 1-18A, identifique el espacio que contiene el DNA mitocondrial, es decir, el espacio que corresponde al citosol de la bacteria que fue internalizada por la célula eucarionte ancestral mostrada en la figura 1-19.

Las membranas internas crean compartimientos intracelulares con diferentes funciones

Los núcleos, las mitocondrias y los cloroplastos no son los únicos orgánulos delimitados por membranas de las células eucariontes. El citoplasma contiene

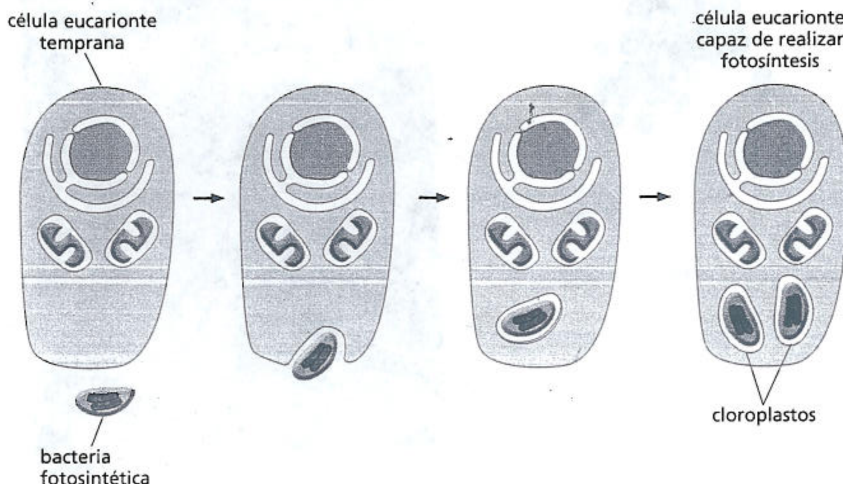


Figura 1-21. Los cloroplastos evolucionaron casi sin duda a partir de bacterias fagocitadas. Se cree que los cloroplastos se originaron a partir de bacterias fotosintéticas simbióticas, que fueron capturadas por células eucariontes primitivas que ya contenían mitocondrias.

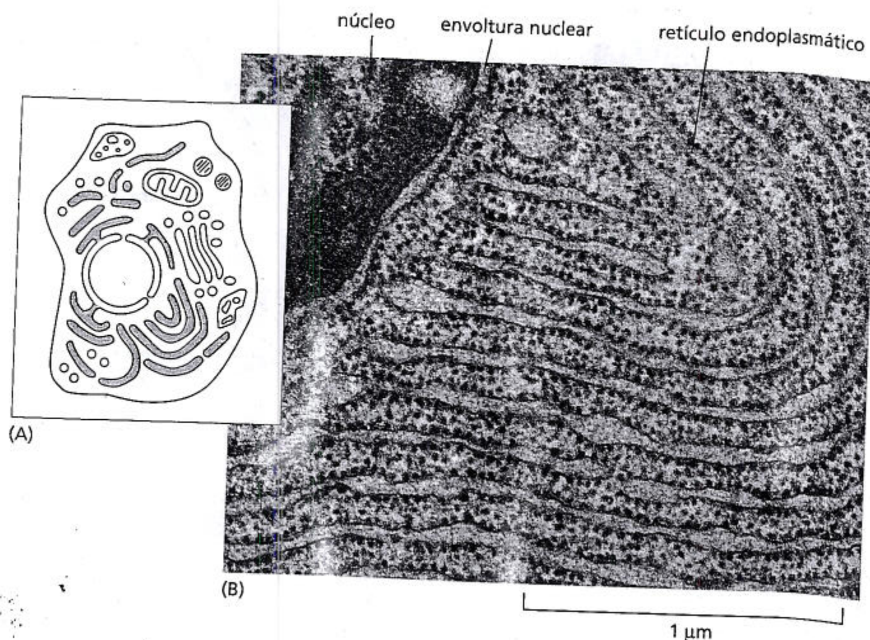


Figura 1-22. Muchos componentes celulares son producidos en el retículo endoplasmático. (A) Esquema de una célula animal que muestra el retículo endoplasmático en *verde*. (B) Microfotografía electrónica de un corte fino de una célula pancreática de mamífero en la que se observa una pequeña parte del retículo endoplasmático (RE), que es muy abundante en este tipo celular, que está especializado en la secreción de proteínas. Obsérvese que el RE se continúa con la membrana de la envoltura nuclear. Las partículas negras que tachonan la región del RE mostrada aquí son ribosomas, los complejos moleculares que efectúan la síntesis proteica. Debido a este aspecto, el RE revestido de ribosomas a menudo se denomina "RE rugoso". (B, cortesía de Lelio Orci).

muchos otros orgánulos –la mayoría rodeados por una sola membrana– que cumplen muchas funciones distintas. La mayor parte de estas estructuras participan en la importación de materiales sin procesar y la exportación de sustancias sintetizadas y productos de desecho. Algunos de estos orgánulos rodeados por membranas están muy agrandados en las células especializadas en la secreción de proteínas; otros son particularmente abundantes en células especializadas en la digestión de cuerpos extraños.

El *retículo endoplasmático (RE)* –un laberinto irregular de espacios interconectados rodeados por una membrana (Fig. 1-22)– es el lugar en donde se fabrican la mayoría de los componentes de la membrana celular, así como las sustancias que



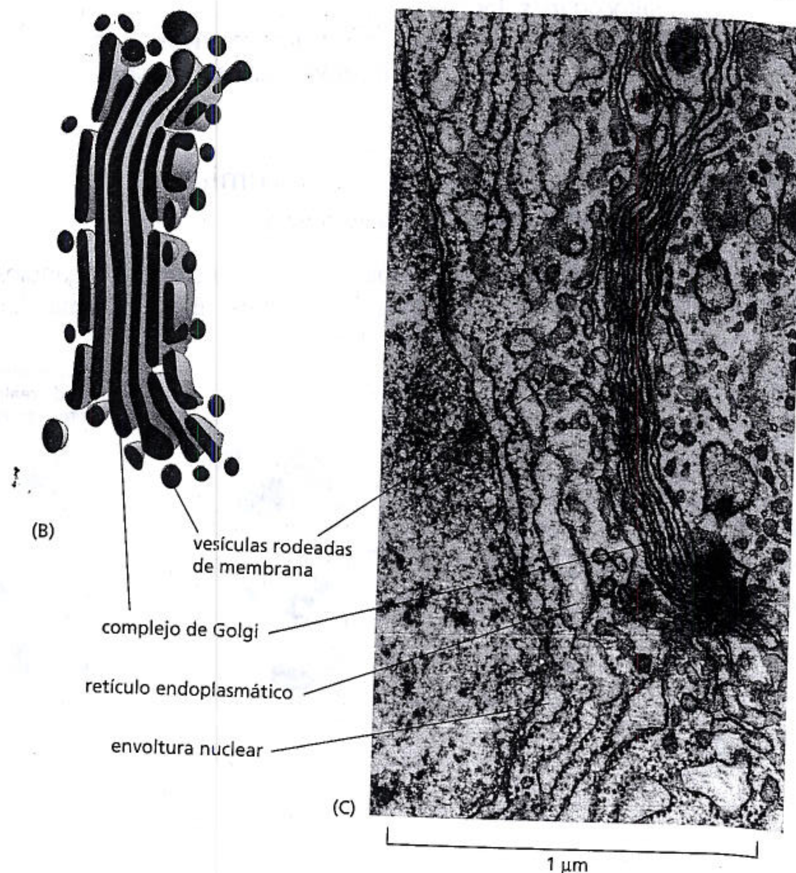


Figura 1-23. El complejo de Golgi se asemeja a una pila de discos aplanados. Este orgánulo, apenas visible con el microscopio óptico y que a menudo pasa inadvertido, participa en la síntesis y empaquetamiento de las moléculas que van a ser secretadas por la célula, así como en el envío de las nuevas proteínas sintetizadas hacia el compartimiento celular adecuado. (A) Esquema de una célula animal con el complejo de Golgi coloreado en *rojo*. (B) Ilustración del complejo de Golgi reconstruido a partir de imágenes obtenidas con el microscopio electrónico. El orgánulo está constituido por sacos aplanados de membranas apiladas en capas. En la proximidad, se observan muchas vesículas pequeñas; algunas de ellas se han desprendido del complejo de Golgi, mientras que otras están destinadas a fusionarse con éste. Aquí se muestra sólo una pila, pero una célula puede contener varias. (C) Microfotografía electrónica del complejo de Golgi de una célula animal típica. (C, cortesía de Brij J. Gupta).

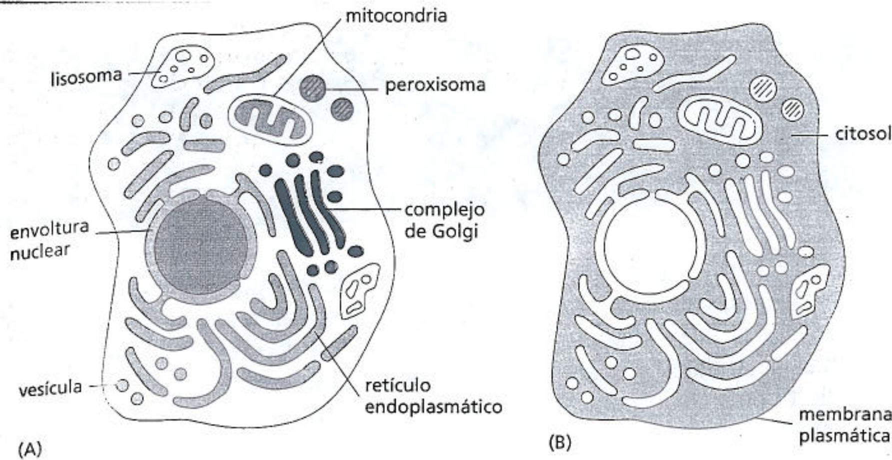


Figura 1-24. Los orgánulos rodeados de membrana se distribuyen por todo el citoplasma. (A) Existe una variedad de compartimientos rodeados de membrana dentro de las células eucariontes, cada uno especializado en una función diferente. (B) El resto de la célula, excluidos todos estos orgánulos, se denomina citosol (coloreado en *azul*).

son exportadas por la célula. El *complejo de Golgi* (Fig. 1-23), compuesto por pilas de sacos aplanados envueltos por membranas, recibe y con frecuencia modifica químicamente las moléculas producidas en el retículo endoplasmático y, después, las envía al exterior de la célula o a diversas localizaciones internas. Los *lisosomas* son orgánulos pequeños de forma irregular, en los que tiene lugar la digestión intracelular, con liberación de nutrientes de partículas alimentarias y degradación de moléculas no deseadas para su reciclado o excreción. Los *peroxisomas* son vesículas pequeñas rodeadas de membrana que proporcionan un medio contenido para las reacciones que generan o degradan peróxido de hidrógeno, una sustancia química peligrosamente reactiva. Las membranas también forman diversos tipos de *vesículas* pequeñas que participan en el transporte de sustancias entre un orgánulo rodeado de membrana y otro. La figura 1-24A esquematiza todo este conjunto de orgánulos interrelacionados.

Entre el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi, los lisosomas y el exterior de la célula, hay un intercambio continuo de materiales. Éste está mediado por vesículas pequeñas rodeadas por membranas que se desprenden de la membrana de un orgánulo y se fusionan con otras, como diminutas pompas de jabón que se liberan de burbujas más grandes y vuelven a juntarse. En la superficie de la célula, por ejemplo, hay porciones de la membrana plasmática que se invaginan y se desprenden formando vesículas que transportan a la célula material capturado del medio externo (Fig. 1-25). Estas vesículas se fusionan con *endosomas* rodeados de membrana, que maduran a lisosomas, donde se digiere el material importado. Las células animales pueden incorporar partículas muy grandes, o incluso células extrañas enteras, mediante este proceso de *endocitosis*. El proceso inverso, la *exocitosis*, por el cual las vesículas del interior de la célula se fusionan con la membrana plasmática y liberan su contenido al medio externo, también es una actividad celular común (véase Fig. 1-25). La mayoría de las hormonas, los neurotransmisores y otras moléculas de señalización son secretados de las células por exocitosis. En el capítulo 15, se analiza con más detalle el mecanismo mediante el cual los orgánulos rodeados de membrana transportan proteínas y otras moléculas en el interior de la célula.

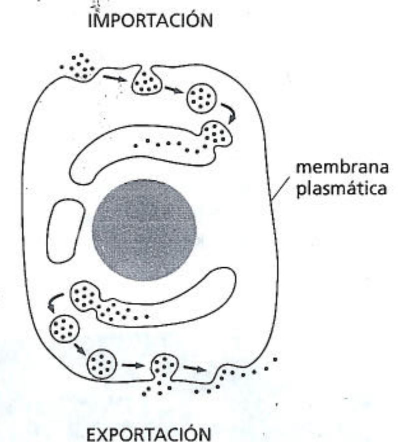


Figura 1-25. Las células pueden realizar endocitosis y exocitosis. Las células pueden importar materiales del medio externo capturándolos en vesículas que se desprenden de la membrana plasmática. Finalmente, las vesículas se fusionan con los lisosomas, donde se produce la digestión intracelular. Mediante un proceso inverso, las células exportan materiales que han sintetizado en el retículo endoplasmático y el complejo de Golgi: los materiales son almacenados en las vesículas intracelulares y liberados al exterior cuando las vesículas se fusionan con la membrana plasmática.

El citosol es un gel acuoso concentrado de moléculas grandes y pequeñas

Si se quitara la membrana plasmática de una célula eucarionte y, después, se eliminaran todos los orgánulos rodeados de membranas, como el núcleo, el RE, el complejo de Golgi, las mitocondrias, los cloroplastos, etcétera, quedaría el **citosol** (Fig. 1-24B). En la mayor parte de las células, el citosol es el compartimiento aislado más grande. Contiene una innumerable cantidad de moléculas grandes y pequeñas tan estrechamente relacionadas que se comporta más como un gel acuoso que como una solución líquida (Fig. 1-26). Es el sitio de muchas reacciones químicas que son fundamentales para la existencia de la célula. Por ejemplo,

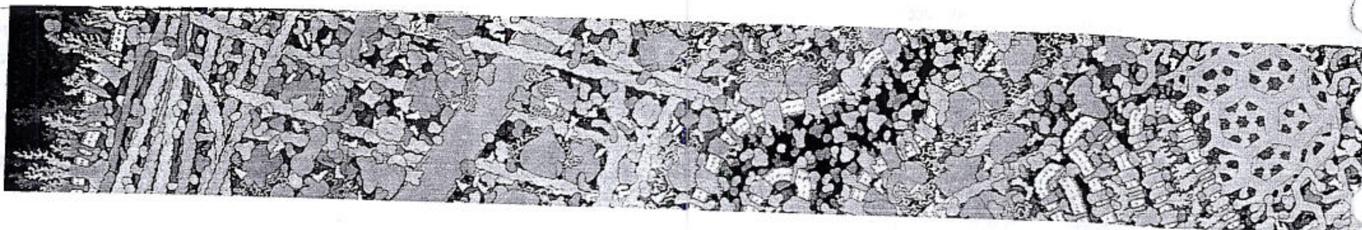


Figura 1-26. **El citoplasma está colmado de orgánulos y de moléculas grandes y pequeñas.** Este esquema, basado en los tamaños y concentraciones conocidos de las moléculas del citosol, muestra lo poblado que está el citoplasma. El panorama comienza en el extremo izquierdo en la superficie celular; avanza por el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi y una mitocondria, y finaliza en el extremo derecho en el núcleo. Obsérvese que algunos ribosomas *(objetos rosados grandes)* están libres en el citosol, mientras que otros están unidos al RE. (Cortesía de D. Goodsell).

en el citosol se producen los primeros pasos de la degradación de las moléculas de nutrientes, y también es el lugar donde la célula realiza uno de sus procesos de síntesis esenciales: la fabricación de proteínas. Los **ribosomas**, las diminutas máquinas moleculares que fabrican moléculas proteicas, son visibles con el microscopio electrónico como partículas pequeñas en el citosol, unidas con frecuencia a la superficie citosólica del RE (véanse Figs. 1-8B y 1-22B).

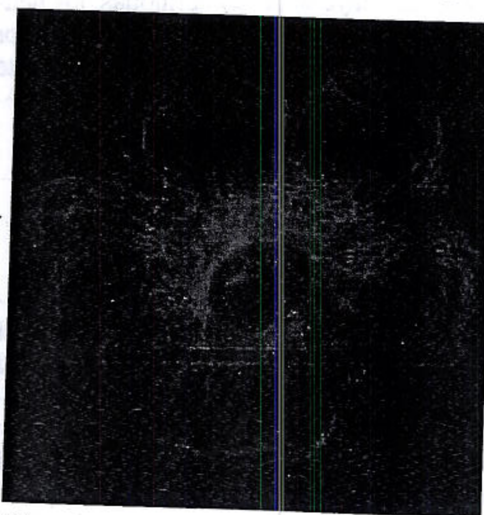
El citoesqueleto es responsable de dirigir los movimientos celulares

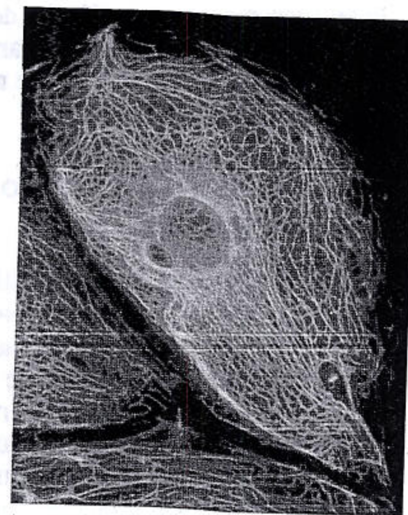
El citoplasma no es sólo una sopa de sustancias químicas y orgánulos sin estructura. Con el microscopio electrónico, se puede observar que, en las células eucariontes, el citosol está entrecruzado por filamentos proteicos largos y delgados. Con frecuencia, se observa que los filamentos están fijos por un extremo a la membrana plasmática o que irradian desde un lugar central cercano al núcleo. Este sistema de filamentos se denomina **citoesqueleto** (Fig 1-27). Los más finos corresponden a *filamentos de actina*, que están presentes en todas las células eucariontes, pero que son especialmente numerosos en las células musculares, donde actúan como parte de la maquinaria que genera las fuerzas contráctiles. Los filamentos más gruesos se denominan *microtúbulos*, porque tienen la forma de tubos huecos diminutos. Durante la división celular, se reorganizan en un orden llamativo, que contribuye a impulsar a los pares de cromosomas en direcciones opuestas y a distribuirlos por igual entre las dos células hijas (Fig. 1-28). Con un grosor intermedio entre los filamentos de actina y los microtúbulos, se encuentran los *filamentos intermedios*, que otorgan resistencia mecánica a la célula. Estos tres tipos de filamentos, junto con otras proteínas unidas a ellos, forman un sistema de vigas, sogas y motores que guía sus movimientos (véanse Película 1.2 y Película 1.3).

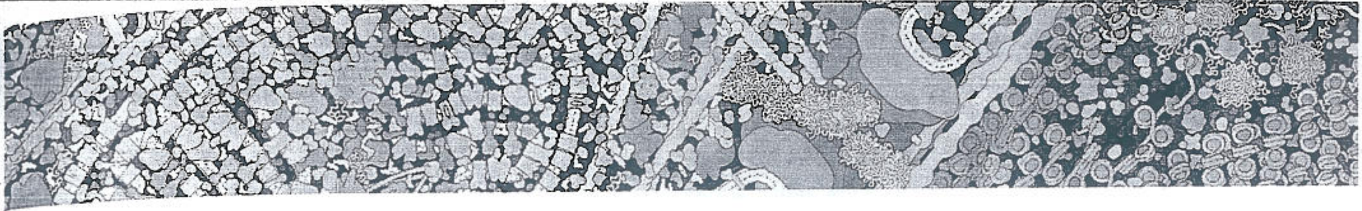
Como el citoesqueleto gobierna la organización interna de la célula, así como sus características externas, es tan necesario para una célula vegetal –envuelta en una pared rígida de matriz extracelular– como para la célula animal que se incurva, se estira, nada o se desliza libremente. En una célula vegetal, por ejemplo, orgánulos como las mitocondrias son impulsados por un flujo constante en el interior de la célu-

Figura 1-27. **El citoesqueleto es una red de filamentos que se entrecruzan en el citoplasma de la célula eucarionte.** Los filamentos compuestos por proteínas proporcionan a todas las células eucariontes una red interna que contribuye a organizar las actividades internas de la célula y es la base de sus movimientos y cambios de forma. El empleo de distintas tinciones fluorescentes permite detectar diferentes tipos de filamentos. Aquí se muestran (A) filamentos de actina, (B) microtúbulos y (C) filamentos intermedios. (A, cortesía de Simon Barry y Chris D'Lacey; B, cortesía de Nancy Kedersha; C, cortesía de Clive Lloyd).


(A)
50 µm


(B)


(C)



la a lo largo de las vías del citoesqueleto. Las células animales y vegetales dependen por igual del citoesqueleto para separar sus componentes internos en dos conjuntos para cada una de las dos células hijas durante la división celular. Su participación en la división celular puede ser la función más antigua del citoesqueleto; incluso las bacterias contienen proteínas relacionadas de manera distante con las de los filamentos de actina y los microtúbulos de los eucariontes, y que forman filamentos que intervienen en la división de las células procariontes. En el capítulo 17, se examina el citoesqueleto en detalle; en el capítulo 18, se analiza su papel en la división celular; y en el capítulo 16, sus respuestas a las señales del ambiente.

El citoplasma dista de ser estático

El interior de la célula está en constante movimiento. El citoesqueleto es una jungla dinámica de cordeles y varillas que se unen y separan continuamente; sus filamentos se pueden reunir y luego desaparecer en cuestión de minutos. A lo largo de estos carriles y cables, los orgánulos y las vesículas se movilizan de un sitio a otro, y atraviesan con rapidez el ancho de la célula en alrededor de un segundo. El RE y las moléculas que ocupan cada espacio libre se encuentran en una conmoción térmica frenética, y las proteínas libres se mueven con tanta celeridad que, incluso aunque se desplacen al azar, llegan a cada rincón de la célula en unos pocos segundos y chocan constantemente con una tormenta de polvo aún más tumultuosa de moléculas orgánicas de menor tamaño.

Por supuesto, ni la naturaleza bullente del interior celular ni los detalles de su estructura fueron apreciados cuando los científicos observaron por primera vez las células con el microscopio: nuestro conocimiento de la estructura celular se acumuló con lentitud. Algunos de los descubrimientos clave se enumeran en el cuadro 1-1. En la lámina 1-2, se resumen las diferencias entre las células animales, vegetales y bacterianas.

Las células eucariontes pueden haberse originado como predadores

Las células eucariontes suelen ser 10 veces más largas y 1.000 veces más voluminosas que las células procariontes (aunque hay una enorme variación de tama-

PREGUNTA 1-6
Sugiera una razón por la cual sería ventajoso para las células eucariontes desarrollar sistemas de membranas internas elaborados que les permitieran importar sustancias desde el exterior, como se muestra en la figura 1-25.

PREGUNTA 1-7
Analice las ventajas y desventajas relativas de la microscopia óptica y la microscopia electrónica. ¿Cuál sería la mejor forma de visualizar (a) una célula cutánea viva, (b) la mitocondria de una levadura, (c) una bacteria y (d) un microtúbulo?

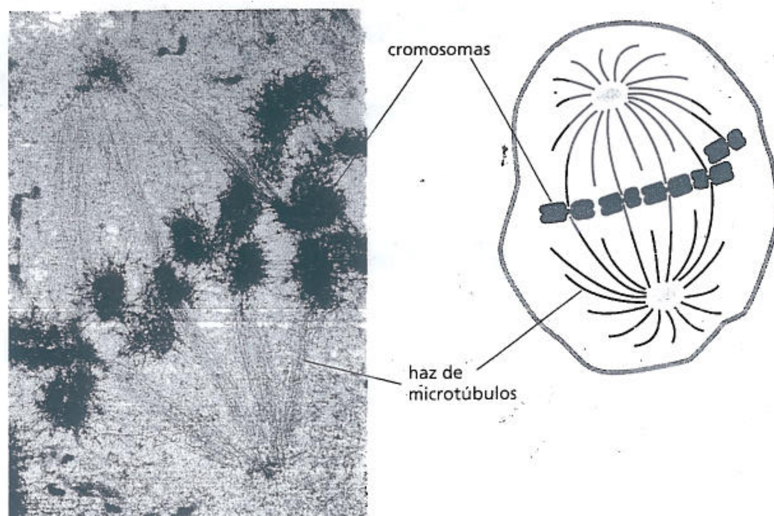


Figura 1-28. Los microtúbulos ayudan a distribuir los cromosomas en la célula en división. Cuando una célula se divide, su envoltura nuclear se fragmenta, y el DNA se condensa en pares de cromosomas visibles, que son separados y llevados a las células hijas por los microtúbulos. En esta microfotografía electrónica de transmisión, se observa que los microtúbulos irradian de focos en los extremos opuestos de la célula en división. (Microfotografía cortesía de Conly L. Rieder).

CUADRO 1-1. HITOS HISTÓRICOS EN LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA CELULAR

1665	Hooke usa un microscopio primitivo y describe pequeños poros en las secciones del corcho a los que denomina **"células"**.
1674	Leeuwenhoek comunica el descubrimiento de **protozoos**. Nueve años después, observa **bacterias** por primera vez.
1833	Brown publica sus observaciones microscópicas de orquídeas y describe con claridad el **núcleo** celular.
1838	Schleiden y Schwann postulan la **teoría celular** al afirmar que la célula nucleada es la unidad universal de los tejidos vegetales y animales.
1857	Kölliker describe las **mitocondrias** en células musculares.
1879	Flemming describe con gran claridad el **comportamiento de los cromosomas durante la mitosis** en las células animales.
1881	Cajal y otros histólogos desarrollan métodos de tinción que revelan la estructura de las **células nerviosas** y la organización del tejido nervioso.
1898	Golgi observa por primera vez y describe al **complejo de Golgi** mediante la tinción de las células con nitrato de plata.
1902	Boveri relaciona **los cromosomas y la herencia** tras observar su comportamiento durante la reproducción sexual.
1952	Palade, Porter y Sjöstrand desarrollan métodos de **microscopia electrónica** que permiten visualizar por primera vez muchas estructuras celulares. En una de las primeras aplicaciones de estas técnicas, Huxley muestra que el músculo contiene haces de filamentos proteicos: la primera evidencia de un **citoesqueleto**.
1957	Robertson describe la estructura en bicapa de la **membrana celular**, visualizada por primera vez con el microscopio electrónico.
1960	Kendrew describe la primera **estructura proteica** detallada (**mioglobina** del esperma de ballena) con una resolución de 0,2 nm mediante **cristalografía de rayos X**. Perutz propone una estructura de menor resolución para la **hemoglobina.**
1965	Christian de Duve y colaboradores utilizaron una técnica de fraccionamiento celular para separar peroxisomas, mitocondrias y lisosomas de una muestra de hígado de ratón.
1968	Petran y col. crean el primer **microscopio confocal**.
1974	Lazarides y Weber utilizan **anticuerpos fluorescentes** para teñir el citoesqueleto.
1994	Chalfie y col. introducen la **proteína fluorescente verde (GFP)** como marcador para seguir el comportamiento de las proteínas en las células vivas.

ño dentro de cada categoría). Además, tienen un conjunto completo de características –citoesqueleto, mitocondrias y otros orgánulos– que las diferencian de las bacterias y las arqueas.

Todavía es un misterio cuándo y cómo las células eucariontes desarrollaron estos sistemas. Aunque la divergencia de las células eucariontes, las bacterias y las arqueas debe haber tenido lugar en etapas muy tempranas de la vida en la Tierra (tema tratado en el capítulo 14), las células eucariontes no adquirieron todos sus rasgos distintivos al mismo tiempo (Fig. 1-29). De acuerdo con una teoría, la célula eucarionte ancestral era un predador que se alimentaba de otras células. Esta forma de vida requiere un gran tamaño, una membrana flexible y un citoesqueleto que facilite el movimiento y la alimentación de la célula. El compartimiento nuclear puede haber evolucionado de modo de mantener al DNA separado de este alboroto físico y químico, y así permitir un control más delicado y complejo de la manera en que la célula lee su información genética.

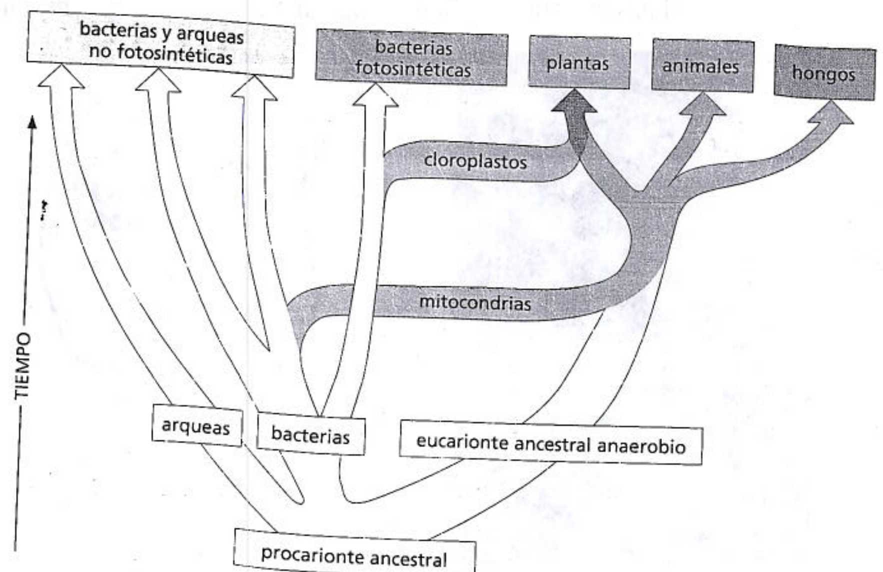
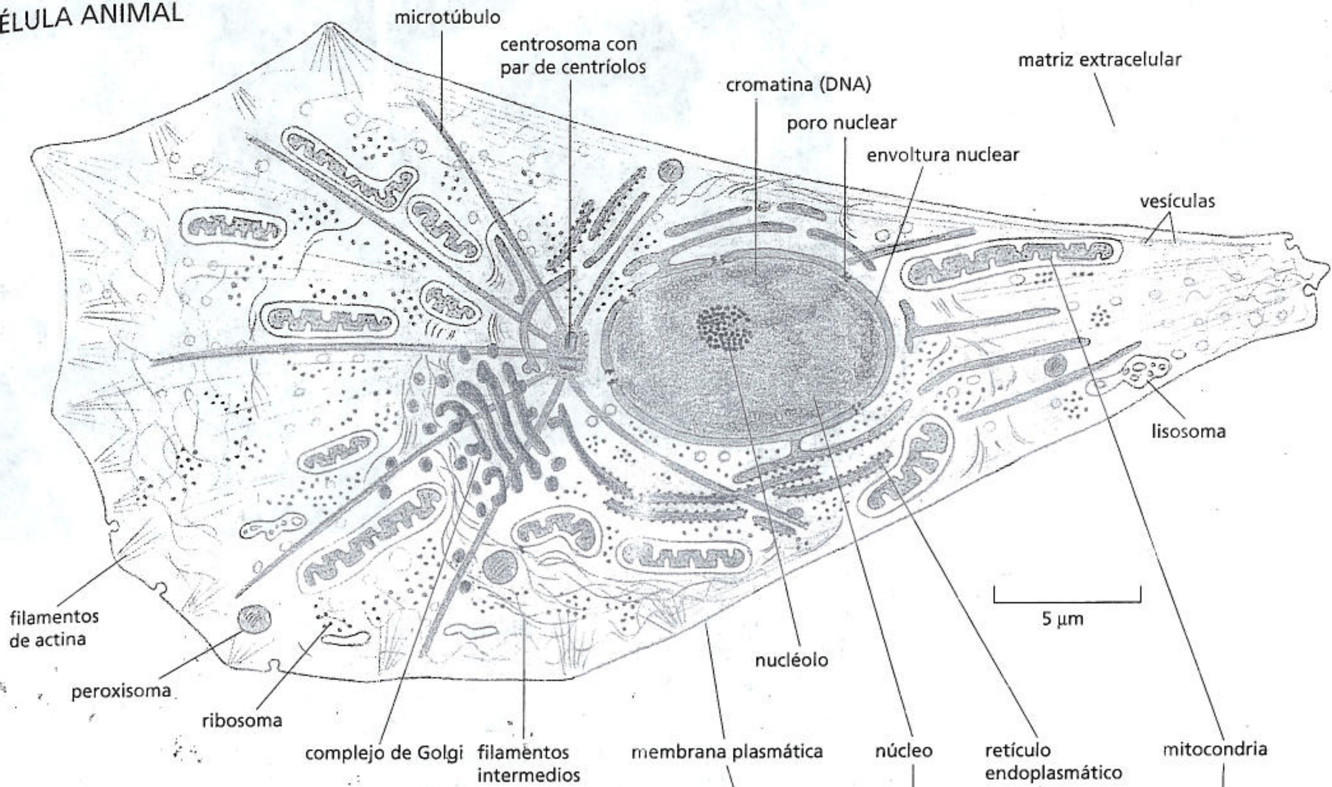
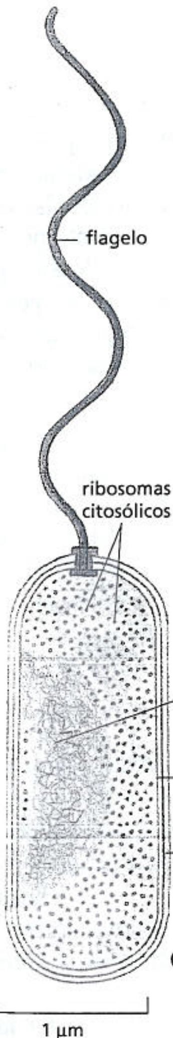


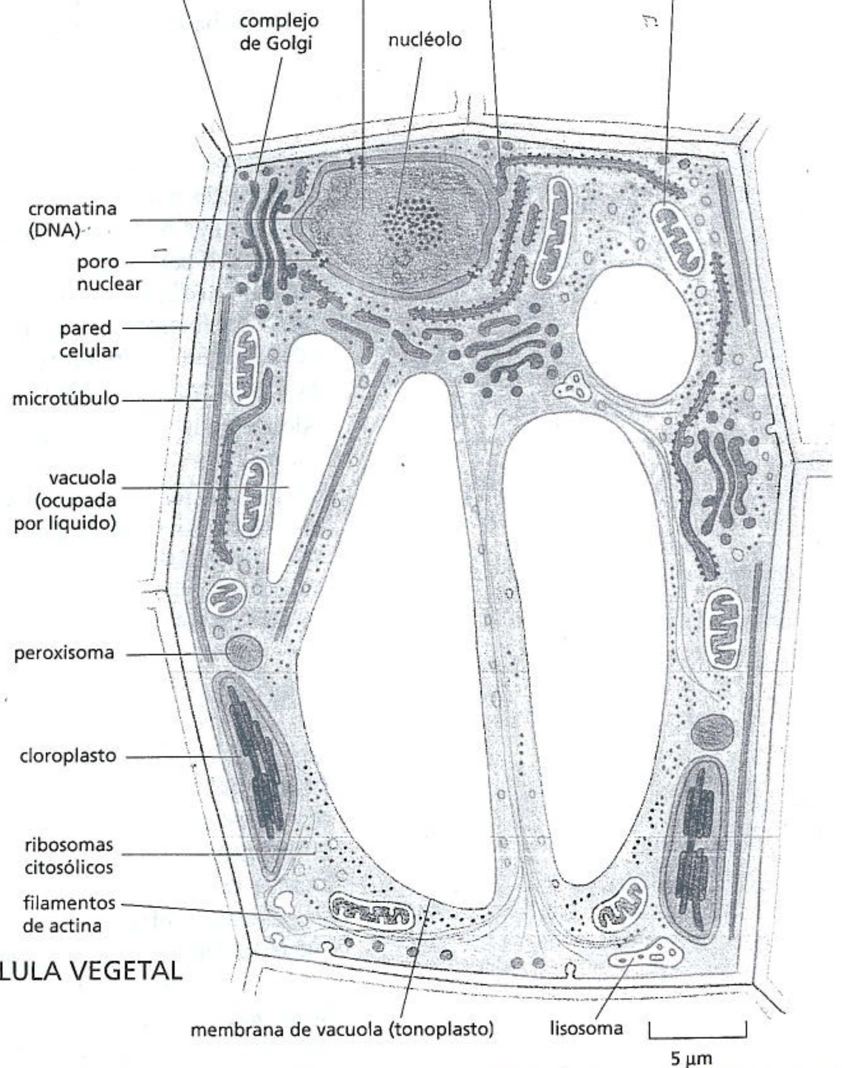
Figura 1-29. ¿De dónde provienen las células eucariontes? Los linajes de eucariontes, bacterias y de arqueas divergieron unos de otros en etapas evolutivas muy tempranas de la vida en la Tierra. Se considera que algún tiempo después, las células eucariontes adquirieron mitocondrias; aún más adelante, un subgrupo de eucariontes adquirió cloroplastos. Las mitocondrias son esencialmente las mismas en vegetales, animales y hongos, y por lo tanto, se presume que fueron adquiridas antes de la divergencia de los linajes.

LÁMINA 2-1 Arquitectura celular



Aquí se representan tres tipos de células de una manera más realista que en el esquema de la figura 1-24. De todos modos, se utilizan los mismos colores para distinguir los principales componentes celulares. La ilustración de la célula animal está basada en un fibroblasto, una célula del tejido conectivo, y deposita matriz extracelular. La figura 1-7A muestra una microfotografía de un fibroblasto vivo. La ilustración de la célula vegetal es típica de una célula de una hoja joven. La bacteria es baciliforme y tiene un solo flagelo para la motilidad.





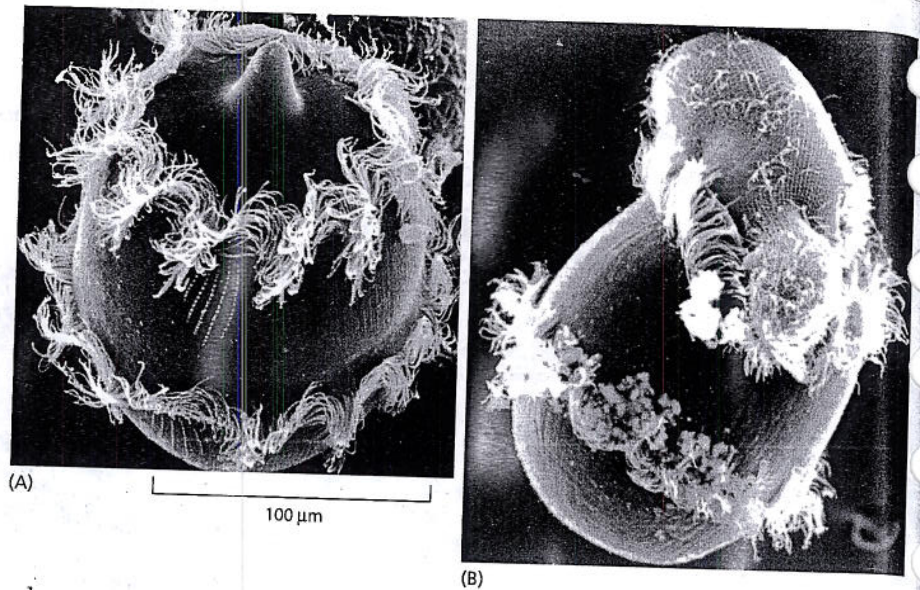


Figura 1-30. Un protozoo fagocitando a otro. (A) La microfotografía electrónica de barrido muestra un *Didinium*, con sus anillos circunferenciales de cilios propulsores y el "hocico" en la parte superior. (B) Se observa cómo *Didinium* ingiere a otro protozoo ciliado, *Paramecium*. (Cortesía de D. Barlow).

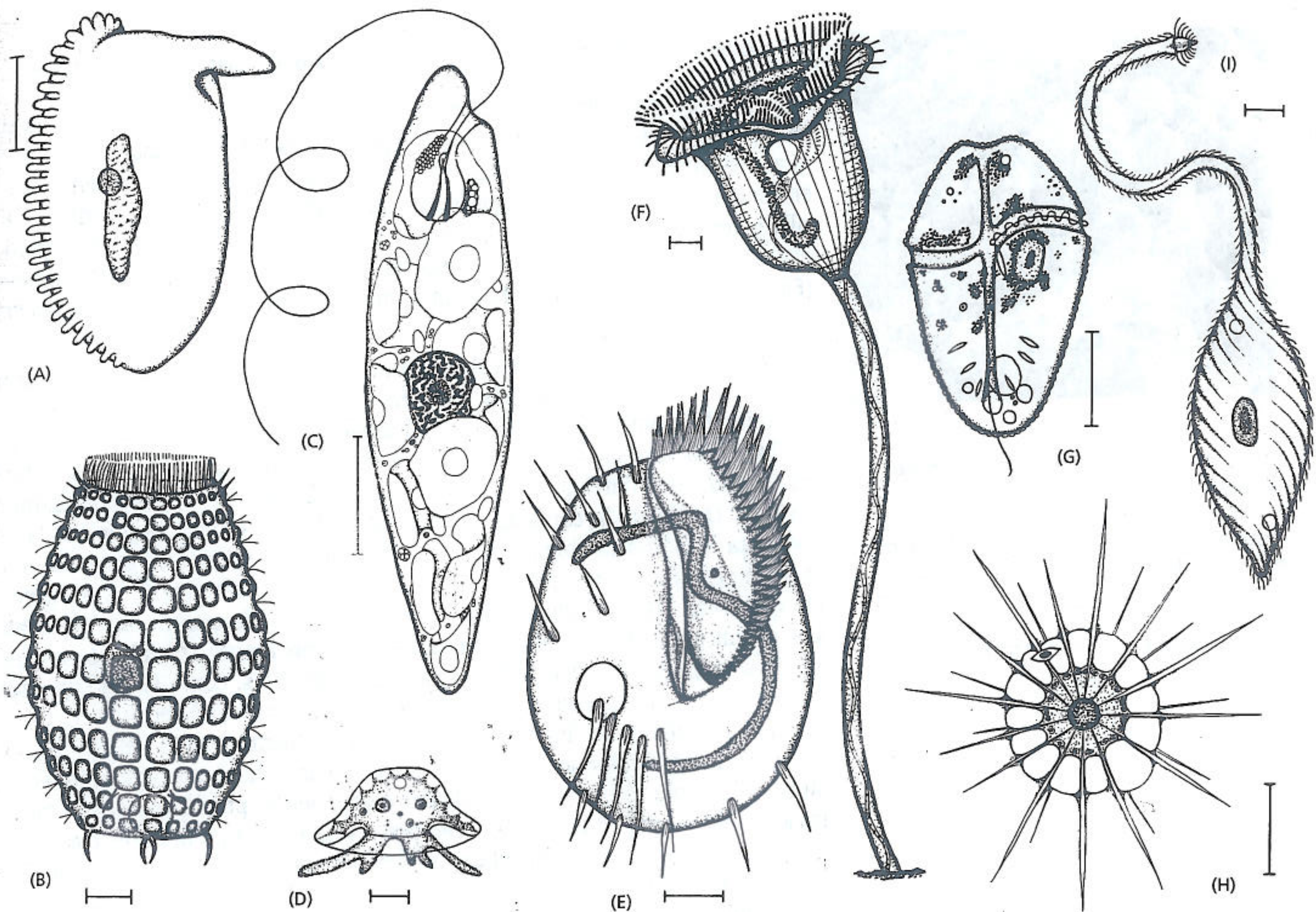
Lo más probable es que un eucarionte tan primitivo, con un núcleo y un citoesqueleto, fuese la clase de célula que haya fagocitado las bacterias de vida libre y consumidoras de oxígeno, que fueron las antecesoras de las mitocondrias (véase Fig. 1-9). Se cree que esta asociación se estableció hace 1.500 millones de años, cuando la atmósfera de la Tierra por primera vez se volvió rica en oxígeno. Un subgrupo de esas células adquirieron más adelante cloroplastos por la incorporación de bacterias fotosintéticas (véanse Figs. 1-21 y 1-29).

Que los organismos eucariontes unicelulares puedan depredar y fagocitar otras células se deduce de la conducta de muchos de los microorganismos de vida libre con movimiento activo denominados **protozoos**. *Didinium*, por ejemplo, es un protozoo carnívoro grande de alrededor de 150 µm de diámetro, aproximadamente 10 veces mayor que la célula humana promedio. Tiene un cuerpo globular rodeado por dos hileras de cilios, y su extremo anterior es aplanado, excepto por una protrusión parecida a un hocico (Fig. 1-30). *Didinium* nada a gran velocidad gracias a sus cilios propulsores. Cuando encuentra una presa apropiada, en general otro tipo de protozoo, libera numerosos dardos paralizantes de la región del hocico. Después, *Didinium* se une a la otra célula y la devora invirtiéndose como una pelota hueca para envolver a su víctima, que casi lo iguala en tamaño.

Algunos protozoos son las células conocidas más complejas. La figura 1-31 ilustra parte de la variedad de formas de protozoos, y su conducta es igual de diversa: pueden ser fotosintéticos o carnívoros, móviles o sedentarios. Con frecuencia, su anatomía es elaborada y comprende estructuras como cerdas sensitivas, fotorreceptores, cilios propulsores, apéndices pedunculares, partes bucales, dardos punzantes y haces contráctiles de tipo muscular. Si bien son unicelulares, pueden ser tan complejos y versátiles como muchos organismos pluricelulares.

ORGANISMOS MODELOS

Se considera que todas las células descienden de un antepasado común, cuyas propiedades fundamentales se han conservado a través de la evolución. Por lo tanto, el conocimiento derivado del estudio de un organismo contribuye al conocimiento de otros, incluido el ser humano. Pero, en el laboratorio ciertos organismos son más fáciles de estudiar que otros. Algunos se reproducen rápidamente y son convenientes para las manipulaciones genéticas; otros son pluricelulares pero transparentes, lo que posibilita observar directamente el desarrollo de sus tejidos y órganos internos. Por estos motivos, grupos importantes de biólogos se han dedicado a estudiar diferentes aspectos de la biología de unas cuantas especies elegidas y han combinado sus conocimientos para lograr una comprensión más profunda de la que se habría



logrado si sus esfuerzos se hubiesen repartido en diferentes especies. La información que se obtiene de esos estudios contribuye al conocimiento del funcionamiento celular. Si bien la lista de estos organismos representativos se expande de manera continua, unos pocos sobresalen en términos de la amplitud y profundidad de información que se ha acumulado sobre ellos a lo largo de los años. En las secciones siguientes, se examinan algunos de estos **organismos modelos** y se repasan los beneficios que ofrece cada uno para el estudio de la biología celular y, en muchos casos, para la promoción de la salud del ser humano.

Figura 1-31. Estas especies de protozoos ilustran la gran variedad que existe dentro de esta clase de microorganismos unicelulares. Las ilustraciones están realizadas en diferentes escalas, pero en cada caso la barra representa 10 µm. Los microorganismos (A), (B), (E), (F) e (I) son ciliados; (C), es un euglenoide; (D), es una ameba; (G), es un dinoflagelado y (H) es un heliozoo. Para ver a un englenoide en acción, véase la Película 1.4 (De M.A. Sleigh, *The Biology of Protozoa.* London: Edward Arnold, 1973. Con autorización de Edward Arnold).

Los biólogos moleculares se concentraron en *E. coli*

En el mundo de las bacterias, el foco de la biología molecular recayó sobre todo en una especie: *Escherichia coli* o *E. coli* (véase Fig. 1-11). Esta pequeña célula bacteriana bastoniforme suele habitar el intestino de los seres humanos y de otros vertebrados, pero puede crecer con facilidad en un medio nutritivo simple en un frasco de cultivo. *E. coli* sobrelleva bien las condiciones químicas variables de su medio y se reproduce con rapidez. Sus instrucciones genéticas están contenidas en una sola molécula de DNA bicatenario, circular, que mide alrededor de 4,6 millones de pares de nucleótidos, y sintetiza 4.300 tipos diferentes de proteínas.

En términos moleculares, se conoce con más profundidad el funcionamiento de *E. coli* que el de cualquier otro organismo vivo. La mayor parte de nuestro conocimiento respecto de los mecanismos fundamentales de la vida –como los procesos de replicación del DNA celular y de decodificación de estas instrucciones genéticas para fabricar proteínas– proviene de estudios sobre *E. coli*. Investigaciones ulteriores confirmaron que estos procesos básicos se producen esencialmente de la misma forma en las células humanas que en *E. coli*.

PREGUNTA 1-8

Su vecina donó $100 para la investigación del cáncer y está horrorizada porque supo que su dinero se invertirá en estudios sobre la levadura de cerveza. ¿Cómo podría tranquilizarla?

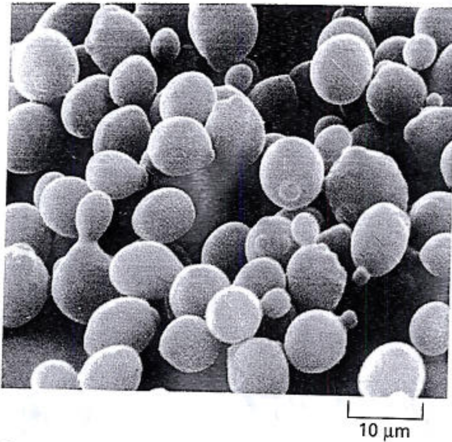


Figura 1-32. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un eucarionte modelo. En esta microfotografía electrónica de barrido, se observan algunas células de levadura durante el proceso de división, que se produce por gemación. La figura 1-14 muestra otra microfotografía de la misma especie. (Cortesía de Ira Herskowitz y Eric Schabatach).

La levadura de cerveza es una célula eucarionte simple

Tendemos a interesarnos por los organismos eucariontes porque somos eucariontes, pero las células humanas son complejas y es difícil trabajar con ellas. Si se quiere conocer la biología básica de la célula eucarionte, con frecuencia, es más eficaz concentrarse en una especie que, como *E. coli* entre las bacterias, sea sencilla y resistente y se reproduzca con rapidez. La especie que se eligió para este papel de eucarionte modelo mínimo fue la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Fig. 1-32), el mismo microorganismo utilizado para la elaboración de la cerveza y del pan.

S. cerevisiae es un hongo unicelular pequeño y, por lo tanto, de acuerdo con los conceptos modernos, está por lo menos tan estrechamente relacionado con los animales como con las plantas. Al igual que otros hongos, tiene una pared celular rígida, es relativamente inmóvil y presenta mitocondrias pero no cloroplastos. Cuando abundan los nutrientes, se reproduce casi con tanta rapidez como una bacteria. Dado que la cantidad de DNA de su núcleo es 2,5 mayor que la de *E. coli*, esta levadura también es un buen modelo para el análisis genético. Si bien su genoma es pequeño (según los estándares para eucariontes), la *S. cerevisiae* cumple todas las funciones básicas que cualquier célula eucarionte debe realizar. Los estudios genéticos y bioquímicos en levaduras fueron cruciales para conocer muchos mecanismos básicos de las células eucariontes, como el ciclo de división celular, es decir la cadena de eventos mediante la cual el núcleo y los otros componentes celulares se duplican y se separan generando dos células hijas. De hecho, la maquinaria que dirige la división celular se ha conservado tan bien a lo largo de la evolución que muchos de sus componentes pueden funcionar tanto en las levaduras como en las células humanas. Si una levadura mutante carece de un gen esencial para la división celular, proporcionarle una copia del gen correspondiente de un ser humano corregirá el defecto de la levadura y le permitirá dividirse normalmente (véase Biología experimental, pp. 30-31).

Arabidopsis fue elegida entre 300.000 especies como modelo vegetal

Los grandes organismos pluricelulares que nos rodean –tanto vegetales como animales– parecen fantásticamente variados, pero están mucho más relacionados entre sí en sus orígenes evolutivos y son mucho más similares en su biología celular básica que el gran número de microorganismos unicelulares. Mientras que las bacterias, las arqueas y los eucariontes se separaron hace más de 3.000 millones de años, las plantas, los animales y los hongos divergieron hace sólo 1.500 millones de años; los peces y los mamíferos, hace 450 millones de años; y las distintas especies de plantas que dan flores, hace menos de 200 millones de años.

La estrecha relación evolutiva entre todas las plantas que dan flores indica que se puede obtener información sobre su biología molecular y celular focalizándose en sólo unas pocas especies adecuadas para un análisis detallado. De los varios cientos de miles de plantas con flores que hay actualmente en la Tierra, los biólogos moleculares hace poco se concentraron en una hierba pequeña, *Arabidopsis thaliana* (Fig. 1-33), que puede crecer en ambientes de interior en grandes cantidades y produce miles de brotes por planta en el lapso de 8 a 10 semanas. *Arabidopsis* tiene un genoma de alrededor de 110 millones de pares de nucleótidos, 8 veces superior al de la levadura, y se conoce su secuencia completa. Mediante el examen de las instrucciones genéticas de *Arabidopsis*, se está empezando a conocer más sobre la genética, la biología molecular y la evolución de las



Figura 1-33. *Arabidopsis thaliana*, el mastuerzo común, es una planta modelo. Esta herbácea pequeña se ha convertido en el organismo favorito de los biólogos moleculares y del desarrollo que estudian vegetales. (Cortesía de Toni Hayden y del John Innes Centre).

plantas que dan flores, que predominan en casi todos los ecosistemas de la Tierra. Como los genes que se encuentran en *Arabidopsis* tienen equivalentes en especies agrícolas, su estudio aporta conocimientos sobre el desarrollo y la fisiología de los cultivos de los que dependen nuestras vidas, así como de otras especies de plantas que nos acompañan en la Tierra.

El mundo animal está representado por una mosca, un gusano, un ratón y por la especie humana

Los animales pluricelulares representan la mayoría de las especies de organismos vivientes conocidos, y la mayoría de las especies animales son insectos. Por lo tanto, es adecuado que un insecto, la pequeña mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (Fig. 1-34), ocupe un papel central en las investigaciones biológicas. De hecho, las bases de la genética clásica se establecieron, en gran medida, gracias a los estudios de este insecto. Hace más de 80 años, investigaciones sobre la mosca de la fruta comprobaron de manera definitiva que los genes –las unidades de la herencia– se encuentran en los cromosomas. En épocas más recientes, se realizó un esfuerzo sistemático conjunto para dilucidar la genética de *Drosophila*, y en especial de los mecanismos genéticos de base de su desarrollo embrionario y larvario. Gracias a este trabajo se empezó a saber, por fin, cómo las células vivas logran su hazaña más notable: cómo un solo oocito fecundado (o *cigoto*) se desarrolla y forma un organismo pluricelular formado por un gran número de células de diferentes tipos, organizadas de una manera previsible con exactitud. Los mutantes de *Drosophila* con partes del cuerpo extrañamente mal localizadas o con una configuración fuera de lo común aportaron la clave para identificar y tipificar los genes necesarios que forman un cuerpo adulto con la estructura apropiada, con intestino, alas, patas, ojos y el resto de las partes en la localización correcta. Estos genes –que son copiados y transmitidos a todas las células del organismo– definen el comportamiento de cada una de ellas en sus interacciones sociales con sus hermanas y primas; de esta manera, controlan las estructuras creadas por las células. *Drosophila*, más que cualquier otro organismo, ha mostrado cómo rastrear la cadena de causas y efectos desde las instrucciones genéticas codificadas en el DNA hasta la estructura del organismo pluricelular adulto. Además, los genes de *Drosophila* han resultado ser sorprendentemente similares a los de los seres humanos, mucho más de lo que se hubiera sospechado por el aspecto externo. En consecuencia, la mosca se utiliza como modelo para el estudio del desarrollo y de las enfermedades del ser humano. El genoma de la mosca –185 millones de pares de nucleótidos que comprenden apenas más de 13.000

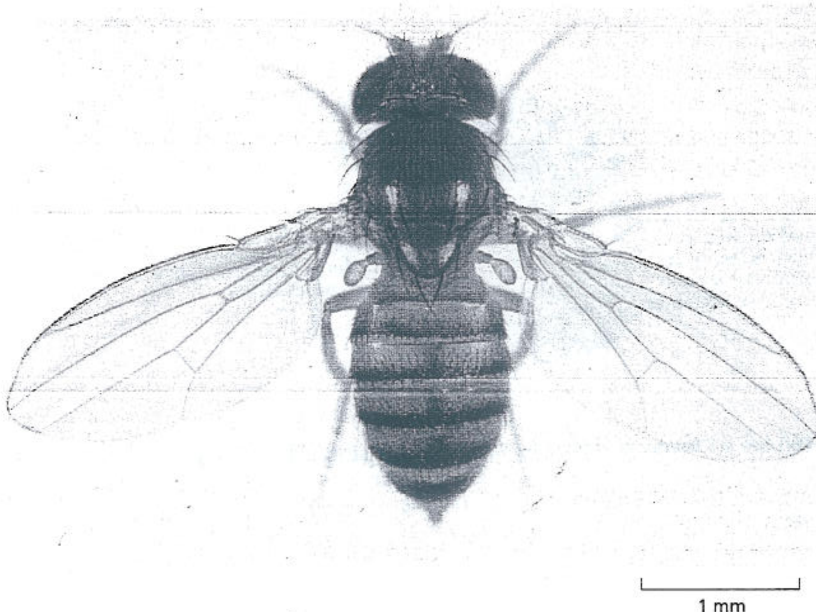


Figura 1-34. *Drosophila melanogaster* es una de las favoritas entre los biólogos del desarrollo y los genetistas. Los estudios de genética molecular en esta pequeña mosca han aportado una clave para comprender el desarrollo de todos los animales. (Cortesía de E.B. Lewis).

MECANISMOS COMUNES DE LA VIDA

Todos los organismos vivos están formados por células, y todas las células –como se trató en este capítulo– son básicamente similares en su interior: almacenan las instrucciones genéticas en moléculas de DNA, que dirigen la producción de proteínas, las que a su vez llevan a cabo las reacciones químicas celulares, le otorgan su forma y controlan su comportamiento. ¿Pero cuán profundas son estas semejanzas? ¿Acaso los componentes celulares de un tipo celular pueden intercambiarse con los componentes de otro tipo? Una enzima que digiere la glucosa en una bacteria, ¿podría degradar el mismo azúcar si funcionara en una levadura, una langosta o en el ser humano? ¿Qué pasa con las máquinas moleculares que copian e interpretan la información genética? ¿Son funcionalmente equivalentes de un organismo a otro? ¿Sus moléculas componentes pueden intercambiarse? Las respuestas han llegado de diversas fuentes, aunque más notablemente de experimentos sobre uno de los procesos más fundamentales de la vida: la división celular.

División o muerte

Todas las células derivan de otras células, y la única forma de originar una célula nueva es mediante la división de una preexistente. Para reproducirse, la célula progenitora debe seguir una secuencia ordenada de reacciones mediante las cuales duplica su contenido y se divide en dos células. El proceso crítico de la duplicación y división, conocido como ciclo celular, es complejo y está cuidadosamente controlado. Los defectos en cualquiera de las proteínas que participan en el ciclo celular pueden ser fatales.

Lamentablemente, los defectos letales de las mutaciones en el ciclo celular representan un problema si se quieren descubrir los componentes de la maquinaria que lo controla y averiguar cómo trabajan. Los científicos dependen de mutantes para identificar genes y proteínas sobre la base de sus funciones: si un gen es esencial para determinado proceso, la mutación que lo afecta se manifestará por una alteración de ese proceso. Mediante el estudio de la conducta inadecuada del organismo mutante, es posible definir la función para la que el gen es necesario, y el análisis del DNA del mutante permite rastrear al propio gen.

Sin embargo, para este tipo de análisis una sola célula mutante no es suficiente: se requiere una gran colonia de células que presenten la mutación. Y en esto radica el problema. Si la mutación altera un proceso esencial para la vida, como es la división celular, ¿cómo se puede obtener esa colonia? Los genetistas han hallado una solución ingeniosa. Los mutantes defectuosos de los genes del ciclo celular se pueden obtener y estudiar si su defecto es *condicional*, es decir, si el producto del gen sólo deja de funcionar en ciertas condiciones. En particular, con frecuencia se pueden encontrar mutaciones que son sensibles a la temperatura: la proteína mutante funciona correctamente cuando el organismo se mantiene frío y permite la reproducción de las células, pero cuando la temperatura se eleva, el calor altera la estructura de la proteína y destruye su desempeño, lo que determina que las células muestren el defecto que interesa (Fig. 1-35). El estudio de estos mutantes condicionales en la levadura permitió descubrir los genes que controlan el ciclo de división celular –los genes *Cdc*– y conocer la forma en que trabajan.

Los mismos mutantes sensibles a la temperatura ofrecen la oportunidad de comprobar si las proteínas de un organismo pueden cumplir funciones similares en otro. ¿Es posible que la proteína de un organismo diferente corrija un defecto del ciclo celular en una levadura mutante y le permita reproducirse con normalidad? El primer experimento se realizó con el empleo de dos especies diferentes de levadura.

Familiar más cercano

Las levaduras –hongos unicelulares– se utilizan con frecuencia en los estudios de la división celular. Son eucariontes, como nosotros, pero son pequeños, simples, de reproducción rápida y de fácil manipulación experimental. *Saccharomyces cerevisiae*, la levadura más extensamente estudiada, se divide mediante la formación de un brote pequeño que crece en forma constante hasta que se separa de la célula madre (véanse figs. 1-14 y 1-32). Una segunda especie de levadura, *Schizosaccharomyces pombe*, también se emplea con frecuencia en los estudios de crecimiento y división celulares. Denominada así por la cerveza africana de donde fue

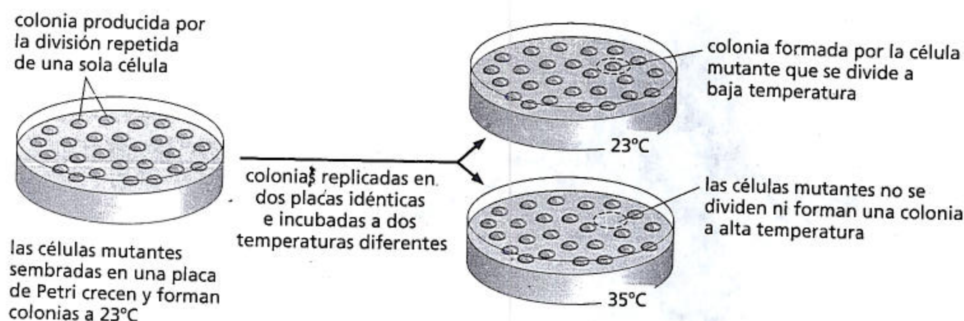
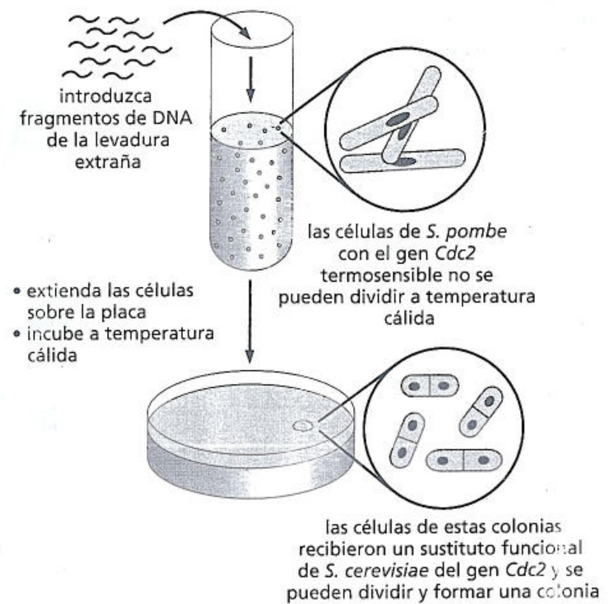


Figura 1-35. En el laboratorio, se pueden generar células de levadura con una mutación sensible a la temperatura. Se incuban las células de levadura con una sustancia química que causa mutaciones del DNA. Después, se las siembra en una placa y se les permite proliferar a una temperatura baja. En esas condiciones, las células que contienen una mutación termosensible o ninguna mutación se dividen normalmente y cada una produce una colonia visible. Se transfieren las colonias a dos placas de Petri idénticas mediante la técnica denominada replicación en placa. Una de estas placas se incuba a una temperatura baja; la otra, a una temperatura alta a la que la proteína mutante no puede funcionar, pero la proteína normal, sí. Las células que presentan la mutación termosensible en un gen esencial para la proliferación se pueden dividir a la temperatura baja, pero no a la temperatura más elevada.

Figura 1-36. Los mutantes de *S. pombe* termosensibles con un gen del ciclo celular defectuoso pueden ser rescatados por el gen equivalente de *S. cerevisiae*. Se extrae DNA de *S. cerevisiae* y se lo divide en fragmentos grandes, que son introducidos en un cultivo de mutantes de *S. pombe* sensibles a la temperatura. En el capítulo 10, se analiza la manera de manipular y transferir el DNA a diferentes tipos celulares. Después, se siembran en una placa las células de levadura que recibieron DNA extraño y se las incuba a temperatura elevada. Las escasas células que sobreviven y crecen en estas placas han sido rescatadas por la incorporación de un gen extraño que permite la división normal aun a alta temperatura.



aislada por primera vez, *S. pombe* es una levadura bastoniforme que crece mediante la elongación de sus extremos y se divide en dos por fisión, después de que se formar una estrangulación en el centro del organismo.

Aunque se diferencian en el modo de división celular, tanto la levadura que se reproduce por gemación y la que lo hace por fisión deben copiar su DNA y pasar el material a su progenie. Para establecer si las proteínas que controlan todo el proceso en *S. cerevisiae* y *S. pombe* son funcionalmente equivalentes, Paul Nurse y cols. investigaron si los mutantes del ciclo celular de *S. pombe* podían ser rescatados por un gen de *S. cerevisiae*. El punto de partida fue una colonia de mutantes de *S. pombe* termosensibles e incapaces de progresar por el ciclo celular cuando crecían a 35 °C. Estas células mutantes tenían un defecto en el gen denominado *Cdc2*, que es necesario para desencadenar varios fenómenos clave del ciclo de división celular. Entonces, los investigadores introdujeron en estas células defectuosas un conjunto de fragmentos de DNA preparados a partir de *S. cerevisiae* (Fig. 1-36).

Cuando estos cultivos fueron incubados a 35°C, los investigadores observaron que algunas células habían recuperado su capacidad de reproducirse: diseminadas en una placa de medio de cultivo, se pudieron dividir una y otra vez, y formar colonias visibles que contenían, cada una, millones de células de levadura (véase Fig. 1-35). Los investigadores descubrieron que estas células de levadura "rescatadas" habían recibido un fragmento de DNA que contenía un gen de *S. cerevisiae* equivalente, un gen que ya era familiar desde los primeros estudios dedicados al ciclo de división celular (por Lee Hartwell y col.) en la levadura que se divide por gemación.

Quizás el resultado no sea tan sorprendente. ¿Qué grado de diferencia pueden tener las levaduras entre sí? ¿Qué pasa con familiares más lejanos? Para descubrirlo, los investigadores realizaron el mismo experimento, esta vez con DNA humano para rescatar a los mutantes del ciclo celular de la levadura. Los resultados fueron los mismos. El gen humano equivalente rescató a los mutantes de levadura, lo que permitió la división normal de las células mutantes.

Genes de lectura

Las proteínas del ser humano y de la levadura no sólo son equivalentes desde el punto de vista funcional, sino que tienen casi el mismo tamaño y son muy parecidas en el orden de los aminoácidos que las forman. Cuando el equipo de Nurse examinó las secuencias de aminoácidos de las proteínas, se observó que la proteína humana *Cdc2* era idéntica a la proteína *Cdc2* de *S. pombe* en el 63% de sus aminoácidos e idéntica a la proteína equivalente de *S. cerevisiae* en el 58% (Fig. 1-37).

Estos experimentos indican que las proteínas de diferentes organismos pueden ser funcionalmente intercambiables. De hecho, las moléculas que rigen la división celular en los eucariontes son tan importantes que se han conservado casi sin modificaciones durante más de mil millones de años de evolución.

El mismo experimento destaca otro punto, incluso más esencial. Las células mutantes de levadura fueron rescatadas no por la inserción directa de la proteína humana, sino por la introducción de un fragmento de DNA humano. Las células de levadura pudieron leer y utilizar correctamente esta información, porque la maquinaria molecular para la lectura de la información codificada en el DNA también es similar entre células y entre organismos. Una célula de levadura cuenta con todo el equipo necesario para interpretar las instrucciones codificadas en un gen humano y utilizar esta información para dirigir la producción de una proteína humana por completo funcional.

Ser humano ···FGLARAFGIPIRVYTHEVVTLWYRSPEVLLGSARYSTPVDIWSIGTIFAELATKLPLFHGDSEIDQLFRIPRALGTPNNEVWPEVESLQDYKNTFP···
S. pombe ···FGLARSFGVPLRNYTHEIVTLWYRAPEVLLGSRHYSTGVDIWSVGCIFAENIRRSPLFPGDSEIDEIFKIPQVLGTPNEEVWPGVTLLQDYKSTFP···
S. cerevisiae ···FGLARAFGVPLRAYTHEIVTLWYRAPEVLLGGKQYSTGVDTWSIGCIFAEHCNRLPIFSGDSEIDQIFKIPRVLGTPNEAIWPDIVYLPDFKPSFP···

Figura 1-37. Las proteínas del ciclo de división celular de las levaduras y del ser humano son muy parecidas en sus secuencias de aminoácidos. Se han indicado con un sombreado en *verde* las secuencias idénticas de aminoácidos de una región de la proteína *Cdc2* del ser humano y una región similar de las proteínas equivalentes *S. pombe* y *S. cerevisiae*. Cada aminoácido está representado por una sola letra.

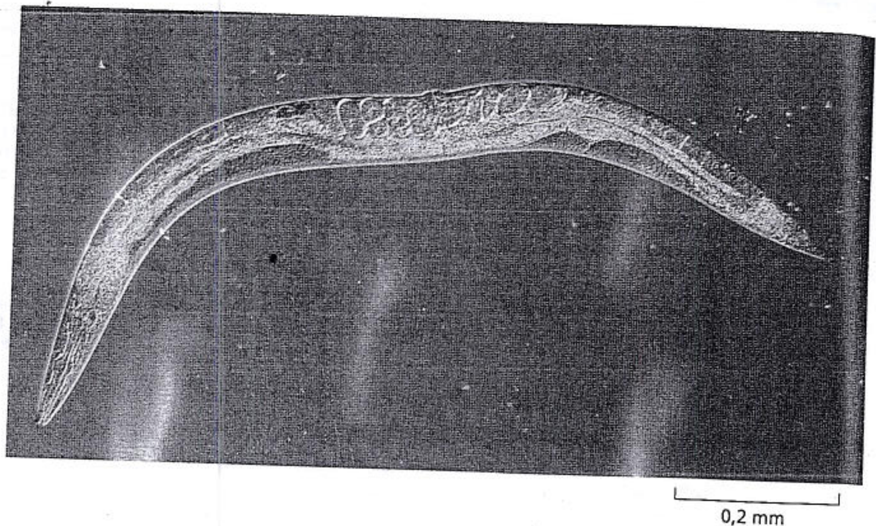


Figura 1-38. *Caenorhabditis elegans* fue el primer organismo pluricelular en el que fue secuenciado todo el genoma. Este pequeño nematodo vive en el suelo. Su desarrollo, desde el oocito fecundado hasta las 959 células del organismo adulto, fue investigado con un detalle extraordinario y es mucho lo que se sabe acerca de los mecanismos genéticos que lo rigen. La mayoría de los individuos son hermafroditas y producen tanto óvulos como espermatozoides. La coloración de esta fotografía se debe a una forma de iluminación especial utilizada para resaltar el contraste de la imagen; el gusano en sí mismo es transparente e incoloro. (Cortesía de Ian Hope).

genes– contiene homólogos de la mayor parte de los genes humanos, incluso la mayor parte de aquellos que son cruciales en las enfermedades humanas.

Otro organismo extensamente estudiado, más pequeño y más simple que *Drosophila*, es el nematodo *Caenorhabditis elegans* (Fig. 1-38), un pariente inofensivo de los nematodos (*eelworm*) que atacan las raíces de los cultivos. Esta criatura se desarrolla con la precisión de un reloj a partir de un huevo fecundado en un ejemplar adulto que tiene exactamente 959 células (más una cantidad variable de óvulos y espermatozoides), un grado de regularidad inusual para un animal. En la actualidad, se cuenta con una descripción minuciosa de la secuencia de fenómenos mediante los cuales tiene lugar este proceso: cómo las células se dividen, se mueven y se especializan de acuerdo con reglas estrictas y previsibles. Se ha secuenciado su genoma: cerca de 97 millones de pares de nucleótidos que contienen alrededor de 19.000 genes, y hay una gran cantidad de mutantes para investigar cómo funcionan estos genes. En apariencia, el 70% de las proteínas humanas tienen algún homólogo en el gusano, y *C. elegans*, al igual que *Drosophila*, es un modelo valioso para muchos de los procesos que se producen en nuestro organismo. Los estudios sobre el desarrollo de nematodos, por ejemplo, permitieron un conocimiento molecular detallado de la *muerte celular programada*, un proceso mediante el cual las células excedentes son eliminadas en todos los animales, un tema de gran importancia en las investigaciones sobre el cáncer (analizado en los Caps. 18 y 20).

Otro organismo que aportó conocimientos acerca de los procesos del desarrollo, sobre todo en los vertebrados, es el *pez cebra* (Fig. 1-39). Como esta criatura es transparente durante las primeras dos semanas de vida, representa un sistema ideal para observar cómo se comportan las células durante el desarrollo en un animal vivo.

En el otro extremo, los mamíferos se encuentran entre los animales más complejos, con el doble de genes que *Drosophila*, 25 veces más DNA por célula y millones de células más en los organismos adultos. El ratón se utiliza desde hace tiempo como modelo para el estudio de la genética, el desarrollo, la inmunología y la biología celular de los mamíferos. Las nuevas técnicas le han otorgado una importancia aún mayor. En la actualidad, es posible obtener ratones con mutaciones deliberadas de cualquier gen específico, o introducirles genes construidos artificialmente. De esta manera, se puede investigar qué codifica determinado gen y cómo funciona. Casi todos los genes humanos tienen un homólogo en el ratón, con una secuencia de DNA y una función similares.



Figura 1-39. El pez cebra es un modelo popular para el estudio del desarrollo de los vertebrados. Estos pequeños peces tropicales resistentes son convenientes para la genética y tienen embriones transparentes, de manera que se puede observar el movimiento y el cambio de los caracteres de las células en el organismo vivo a medida que éste se desarrolla. (Con autorización de Steve Baskauf).

Pero los seres humanos no son ratones, ni peces, ni gusanos, ni moscas, ni levaduras y, por eso, también se los debe estudiar. La investigación en muchas áreas de la biología celular ha estado impulsada, en gran medida, por intereses médicos, y gran parte del conocimiento proviene de estudios de células humanas. La base de datos médica sobre células humanas es enorme y, si bien las mutaciones naturales en cualquier gen dado son raras, las consecuencias de las mutaciones



Figura 1-40. Diferentes especies de seres vivos comparten genes similares. En el bebé humano y en el ratón se pueden observar manchas blancas parecidas en la frente, porque ambos presentan defectos del mismo gen (denominado *Kit*), necesario para el desarrollo y mantenimiento de las células pigmentarias. (Cortesía de R.A. Fleischman, de *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10885-10889, 1991. Con autorización de la National Academy of Sciences).

en miles de genes diferentes se conocen gracias a la ingeniería genética. Esto se debe a que los seres humanos comunican y registran sus propios defectos genéticos; no existe otra especie en la que miles de millones de individuos sean tan extensamente examinados, descritos e investigados.

No obstante, todavía es enorme la magnitud de lo ignorado. El organismo de los mamíferos es sumamente complejo, y uno podría desesperarse intentando comprender cómo el DNA en un oocito fecundado de ratón genera un ratón, o cómo el DNA de un óvulo humano dirige el desarrollo de un ser humano. Sin embargo, las revelaciones de la biología molecular han hecho que esta tarea parezca posible. Este nuevo optimismo está asociado con el descubrimiento de que los genes de un tipo animal tienen equivalentes cercanos en la mayor parte de las otras clases de animales y que, aparentemente, desempeñan funciones similares (Fig. 1-40). Todos tenemos un origen evolutivo común y, bajo la superficie, parece que compartimos los mismos mecanismos moleculares. Así, las moscas, los gusanos, los ratones y los seres humanos proporcionan una clave para comprender cómo están constituidos los animales en general y cómo funcionan sus células.

La comparación de la secuencia del genoma revela la herencia común de la vida

En el nivel molecular, el cambio evolutivo ha sido notoriamente lento. En los organismos actuales, se pueden encontrar muchas características que se preservaron a lo largo de más de 3.000 millones de años de vida en la Tierra, o cerca de una quinta parte de la edad del universo. Esta conservación evolutiva proporciona las bases del estudio de la biología molecular. Por lo tanto, a fin de preparar la escena para los capítulos siguientes, en este capítulo se finaliza con un análisis un poco más detallado de las relaciones de parentesco y las semejanzas básicas entre los organismos vivos. Este tema se esclareció de manera sustancial en los últimos años mediante el análisis de las secuencias del genoma, las secuencias en las que los cuatro nucleótidos universales se unen y forman el DNA de una especie determinada (como se considera con mayor detalle en el Cap. 9).

La secuenciación del DNA facilitó la detección de semejanzas familiares entre genes: si dos genes de organismos distintos presentan secuencias de DNA estrechamente similares, es muy probable que ambos desciendan de un gen ancestral común. Los genes (y los productos génicos) relacionados de esta forma se denominan **homólogos**. Dado que se conocen las secuencias completas del genoma de organismos representativos de los tres dominios de la vida –arqueas, eubacterias y eucariontes– es posible la investigación sistemática de homologías que abarcan esta enorme división evolutiva. De esta forma, se puede empezar a considerar la herencia común de todos los seres vivos y rastrear los orígenes de la vida hasta las células ancestrales iniciales. Esta tarea presenta dificultades: algunos genes ancestrales se han perdido, y otros cambiaron tanto que no son fáciles de reconocer como emparentados. Pese a estas incertidumbres, la comparación de las secuencias del genoma de las ramificaciones más ampliamente separadas del árbol de la vida puede aportar información sobre qué genes son fundamentales de las células vivas.

La comparación de los genomas completos de cinco bacterias, una arquea y un eucarionte (una levadura) reveló un grupo central de 239 familias de genes que codifican proteínas, que tienen representantes en los tres dominios. A la mayoría de estos genes se les puede asignar una función, y las familias de genes compartidos más extensas participan en el metabolismo y transporte de los aminoácidos, y en la producción y función de los ribosomas. De este modo, es probable que la cantidad mínima de genes necesarios para que una célula sea viable en el medio actual no sea muy inferior a 200-300. El genoma más estandarizado registrado hasta la fecha es el de una bacteria denominada *Carsonella ruddii*, que vive dentro de células especializadas de piojos de plantas y tiene 182 genes. Sin embargo, este organismo depende de genes de su insecto hospedador para cumplir muchas de sus funciones esenciales.

Gran parte de los organismos tienen bastante más que el mínimo estimado de cientos de genes. Incluso los procariontes –células sencillas cuya carga genética superflua es muy escasa– suelen tener genomas que contienen no menos de un millón de pares de nucleótidos y que codifican entre 1.000 y 8.000 genes. Con estos pocos miles de genes, las bacterias son capaces de desarrollarse aun en los ambientes más hostiles de la Tierra.

Los genomas compactos de las bacterias típicas parecen pequeños en comparación con los genomas de las células eucariontes típicas. El genoma del ser humano, por ejemplo, contiene una cantidad de DNA que supera alrededor de 700 veces la del genoma de *E. coli*, y el genoma de un helecho contiene una cantidad 100 veces mayor que la del ser humano (Fig. 1-41). Sin embargo, en términos del número de genes, las diferencias no son tan grandes. La cantidad de genes del ser humano sólo es siete veces superior a la de *E. coli* si contamos a los genes como la extensión de DNA que contiene las especificaciones para una molécula de proteína. Además, muchos de nuestros 24.000 genes que codifican proteínas y las proteínas correspondientes pertenecen a grupos de familias estrechamente relacionadas, como la familia de hemoglobinas, que tiene nueve miembros íntimamente relacionados en los seres humanos. La cantidad de proteínas por completo diferentes de un ser humano no es mucho más grande que la de una bacteria, y la cantidad de genes humanos que tienen homólogos identificables en la bacteria representa una fracción significativa del total.

El resto del DNA humano –el enorme volumen que no codifica una proteína ni moléculas de RNA funcionales– es una mezcla de secuencias que ayudan a regular la expresión de los genes, y secuencias que parecen ser redundantes (*junk*), que son conservadas como un conjunto de periódicos viejos porque, si no existe la presión de mantener un archivo pequeño, es más fácil guardar todo que seleccionar la información valiosa y descartar el resto. La gran cantidad de DNA regulador permite una

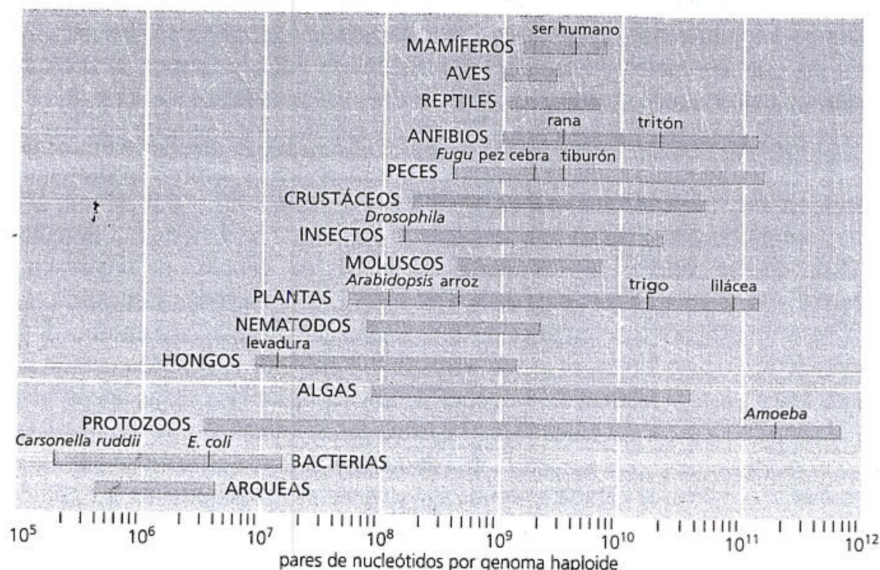


Figura 1-41. Los organismos presentan enormes variaciones en el tamaño de sus genomas. El tamaño del genoma se mide en pares de nucleótidos de DNA por genoma haploide; es decir, por cada copia del genoma. (Las células de los organismos que se reproducen sexualmente, como el hombre, suelen ser diploides: contienen dos copias del genoma, una heredada de la madre, y la otra, del padre). Organismos estrechamente relacionados pueden variar ampliamente en la cantidad de DNA de su genoma (como indica la longitud de las barras *verdes*), aunque contengan cantidades similares de genes funcionalmente distintos. (Adaptado de T.R. Gregory, 2008, Animal Genome Size Database: www.genomesize.com).

gran complejidad y sofisticación en la forma en la que diferentes genes de un organismo pluricelular eucarionte son activados en momentos y lugares distintos. Sin embargo, la lista básica de componentes –el grupo de proteínas que nuestras células pueden sintetizar de acuerdo con lo especificado por el DNA– es mucho más extensa que la lista de las partes de un automóvil, y muchos de esos componentes son comunes no sólo a todos los animales, sino a todo el mundo viviente.

El hecho de que la extensión del DNA pueda programar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción de las células vivas y organismos complejos es, en realidad, un fenómeno asombroso. En el resto del libro, se intentará explicar cómo trabajan las células examinando sus componentes y cómo ellos trabajan juntos e investigando cómo el genoma de cada célula dirige la fabricación de los componentes, de manera que permitan la reproducción y la función de cada organismo vivo.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las células son las unidades básicas de la vida. Se considera que todas las células actuales evolucionaron a partir de una célula ancestral que existió hace más de 3.000 millones de años.
- Todas las células y, por lo tanto, todos los organismos vivos, crecen, convierten energía de una forma a otra, reaccionan a su medio ambiente y se reproducen.
- Todas las células están rodeadas por una membrana plasmática que separa el contenido celular del medio ambiente.
- Todas las células contienen DNA como depósito de la información genética y lo utilizan como guía para la síntesis de moléculas de RNA y de proteínas.
- Las células de un organismo pluricelular, aunque contienen todas el mismo DNA, pueden ser muy diferentes. Activan diferentes grupos de genes según sus antecedentes evolutivos y las señales que reciben de su medio ambiente.
- Las células de los tejidos animales y vegetales suelen tener de 5 a 20 μm de diámetro, y se las puede observar con el microscopio óptico, que también revela algunos de sus componentes internos u orgánulos.
- El microscopio electrónico permite visualizar orgánulos de menor tamaño e, incluso, moléculas, pero las muestras requieren una preparación compleja y no pueden observarse organismos vivos.
- Las células vivas actuales más simples son procariontes: si bien tienen DNA, carecen de núcleo y de otros orgánulos, y es probable que sean las más parecidas a la célula ancestral.
- Las diferentes especies de procariontes difieren en sus capacidades químicas y viven en un amplio espectro de hábitats. Se reconocen dos subdivisiones evolutivas fundamentales: bacterias y arqueas.
- Las células eucariontes tienen un núcleo y otros orgánulos no encontrados en los procariontes. Es probable que hayan evolucionado mediante una serie de etapas. Un paso importante parece haber sido la adquisición de mitocondrias, que se considera que se originaron a partir de bacterias fagocitadas por una célula eucarionte ancestral.
- El núcleo es el orgánulo más importante de la mayoría de las células vegetales y animales. Contiene la información genética del organismo, almacenada en las moléculas de DNA. Los otros componentes de la célula, aparte del núcleo, constituyen el citoplasma.
- El citoplasma contiene todo el contenido extranuclear de la célula. Presenta diversos orgánulos rodeados de membrana con funciones químicas especializadas. Las mitocondrias llevan a cabo la oxidación de las moléculas de alimento. En las células vegetales, los cloroplastos realizan la fotosíntesis. El retículo endoplasmático, el complejo de Golgi y los lisosomas le permiten a la célula sintetizar moléculas complejas para su exportación de la célula y la inserción en las membranas celulares, y la importación y digestión de moléculas de gran tamaño.
- En el citoplasma, fuera de los orgánulos rodeados de membrana, está el citosol, una mezcla concentrada de moléculas pequeñas y grandes que realizan muchos procesos bioquímicos esenciales.
- El citoesqueleto se extiende a través de todo el citoplasma. Este sistema de fila-

mentos proteicos es responsable de la forma y el movimiento de la célula, y del transporte de orgánulos y de moléculas de un lugar a otro del citoplasma.

- Los microorganismos eucariontes unicelulares de vida libre incluyen algunas de las células eucariontes conocidas más complejas y son capaces de nadar, aparearse, cazar y devorar alimentos.
- Un animal, una planta o un hongo son diversos tipos de células eucariontes derivadas de un oocito fecundado; la cantidad de estas células que cooperan formando un organismo pluricelular grande, como un ser humano, es del orden de miles de miles de millones.
- Los biólogos han elegido un número limitado de organismos modelo para estudiar en forma exhaustiva. Éstos son la bacteria *E. coli*, la levadura de cerveza, un gusano nematodo, una mosca, una planta pequeña, un ratón y la propia especie humana.
- Si bien el número mínimo de genes que requiere una célula para ser viable es menor de 400, la mayoría de las células contienen una cantidad significativamente mayor. Incluso un organismo tan complejo como el ser humano sólo tiene alrededor de 24.000 genes que codifican proteínas, el doble que la mosca y siete veces más que una *E. coli*.

PALABRAS CLAVE

arquea	eucarionte	núcleo
bacteria	evolución	organismo modelo
célula	genoma	orgánulo
citoesqueleto	homólogo	procarionte
citoplasma	micrómetro	proteína
citosol	microscopio	protozoo
cloroplasto	mitocondria	ribosoma
cromosoma	nanómetro	RNA
DNA		

PREGUNTAS

PREGUNTA 1-9

En este punto, ya debería estar familiarizado con los siguientes componentes celulares. Defina brevemente qué son y qué función cumplen en las células.

A. citosol

B. citoplasma

C. mitocondrias

D. núcleo

E. cloroplastos

F. lisosomas

G. cromosomas

H. complejo de Golgi

I. peroxisomas

J. membrana plasmática

K. retículo endoplasmático

L. citoesqueleto

PREGUNTA 1-10

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Explique sus respuestas.

A. La información hereditaria de una célula se transmite a través de sus proteínas.

B. El DNA bacteriano se encuentra en el citosol.

C. Las plantas están formadas por células procariontes.

D. Todas las células del mismo organismo tienen el mismo número de cromosomas (con excepción del óvulo y del espermatozoide).

E. El citosol contiene orgánulos rodeados de membrana, como los lisosomas.

F. Los núcleos y las mitocondrias están circundados por una membrana doble.

G. Los protozoos son organismos complejos con un conjunto de células especializadas que forman tejidos, como flagelos, partes bucales, dardos punzantes y apéndices pedunculares.

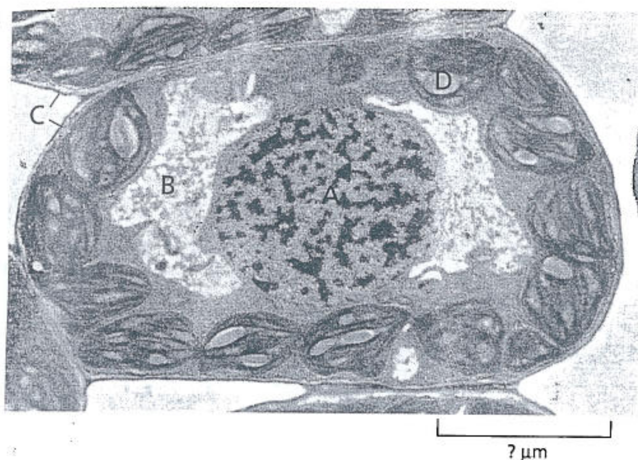
H. En los lisosomas y los peroxisomas, tiene lugar la degradación de las sustancias no deseadas.

PREGUNTA 1-11

Para tener una idea del tamaño de las células (y para practicar el empleo del sistema métrico) considere lo siguiente: el cerebro humano pesa aproximadamente 1 kg y tiene unas 10^{12} células. Calcule el tamaño medio de una célula cerebral (aunque se sabe que sus dimensiones varían considerablemente) teniendo en cuenta que cada célula está llena de agua (1 cm^3 de agua pesa 1 g). ¿Cuál sería la longitud de un lado de esta célula cerebral de tamaño medio si fuera un cubo simple? Si las células se extendieran en una capa delgada con un espesor equivalente a sólo una célula, ¿cuántas páginas de este libro cubriría esa capa?

PREGUNTA 1-12

Identifique los distintos orgánulos indicados con letras en la microfotografía electrónica mostrada abajo. Calcule la longitud de la barra de escala en la figura.



PREGUNTA 1-13

Existen tres clases principales de filamentos que forman el citoesqueleto. ¿Cuáles son y qué diferencias tienen en sus funciones? ¿Qué filamentos del citoesqueleto abundarían más en una célula muscular o en una célula epidérmica que constituye la capa externa de la piel? Explique sus respuestas.

PREGUNTA 1-14

La selección natural es una fuerza tan poderosa en la evolución porque las células con ventajas de crecimiento incluso pequeñas superan con rapidez a sus competidoras. Para ilustrar este proceso, considere un cultivo celular que contiene un millón de células bacterianas que se duplican cada 20 minutos. Una célula del cultivo adquiere una mutación que le permite dividirse con mayor rapidez, con un tiempo de generación de sólo 15 minutos. Considerando que el suministro de alimentos es ilimitado y que no hay muerte celular, ¿cuánto tiempo transcurriría hasta que la progenie de la célula mutada predomine en el cultivo? (Antes de efectuar el cálculo, arriesgue: ¿piensa que tardaría alrededor de un día, una semana, un mes o un año?) ¿Cuántas células de cada tipo están presentes en el cultivo en este momento? (El número de células N en el cultivo en un tiempo t es definido por la ecuación $N = N_0 \times 2^{t/G}$, donde N_0 es el número de células en el tiempo cero y G es el tiempo de generación).

PREGUNTA 1-15

Cuando las bacterias crecen en condiciones adversas, es decir, en presencia de un tóxico como antibiótico, la mayoría de las células crecen y proliferan con lentitud. Sin embargo, es frecuente que la velocidad de crecimiento de un cultivo bacteriano expuesto a un tóxico se restablezca después de algunos días al observado en su ausencia. Sugiera cuál puede ser la causa.

PREGUNTA 1-16

Aplique el principio del crecimiento exponencial de un cultivo como el descrito en la pregunta 1-14 a las células de un organismo pluricelular, como el cuerpo humano. En el hombre, hay alrededor de 10^{13} células. Considere que una célula adquiere una mutación que le permite dividirse en forma descontrolada (es decir, se convierte en una célula cancerosa). Algunas células cancerosas pueden proliferar con un tiempo de generación de alrededor de 24 horas. Si ninguna de las células cancerosas muriera, ¿cuánto tiempo transcurriría para que las 10^{13} células de su organismo se conviertan en células tumorales? (Utilice la ecuación $N = N_0 \times 2^{t/G}$, donde t es el tiempo y G, la duración de cada generación. Indicación: $10^{13} \cong 2^{43}$).

PREGUNTA 1-17

Analice la siguiente afirmación: "La estructura y la función de una célula viva están dictadas por las leyes de la física y de la química".

PREGUNTA 1-18

Si es que existen ¿cuáles son las ventajas de ser pluricelular?

PREGUNTA 1-19

Dibuje en escala el contorno de dos células esféricas, una de una bacteria con un diámetro de 1 µm y otra de un animal con un diámetro de 15 µm. Calcule el volumen, la superficie, y la relación entre superficie y volumen de cada célula. ¿Cómo variaría la última relación si se incluyeran las membranas internas de la célula en el cálculo de la superficie (considere que las membranas internas tienen una superficie que es 15 veces mayor que la de la membrana plasmática)? (El volumen de la esfera está dado por $4\pi R^3/3$ y su superficie por $4\pi R^2$, donde R es el radio). Analice la siguiente hipótesis: "Las membranas internas permitieron la evolución de células más grandes".

PREGUNTA 1-20

¿Cuáles son los argumentos que indican que las células evolucionaron a partir de una célula ancestral común? Imagine los primeros días de evolución de la vida en la Tierra. ¿Consideraría que la célula ancestral primordial fue la primera y única célula que se formó?

PREGUNTA 1-21

En la figura 1-26, las proteínas son azules, los ácidos nucleicos son anaranjados o rojos, los lípidos son amarillos y los polisacáridos son verdes. Identifique los principales orgánulos y las otras estructuras celulares importantes expuestas en este corte de una célula eucarionte.

PREGUNTA 1-22

Mirando agua de estanque en el microscopio, advierte una célula en forma de bastoncillo no familiar de alrededor de 200 μm de longitud. Sabiendo que algunas bacterias excepcionales pueden ser así de grandes o aun más, se pregunta si su célula es una bacteria o un eucarionte. ¿Qué decidirá? Si no es un eucarionte, ¿cómo descubrirá si es una bacteria o una arquea?



CAPÍTULO **DOS**

2

Componentes químicos de las células

A primera vista parece difícil aceptar que los seres vivos sean simples sistemas químicos. Por su increíble variedad de formas, por su comportamiento aparentemente deliberado, y por su capacidad para crecer y reproducirse no parecen formar parte del mundo de los sólidos, los líquidos ni de los gases que suele describir la química. En realidad, hasta el siglo XIX, se aceptaba que los animales tenían una fuerza vital –un "animus"– que era responsable de sus propiedades características.

Hoy se sabe que en los organismos vivos todo obedece a las leyes de la química y de la física. Sin embargo, la química de la vida es de un tipo especial. En primer lugar, se basa casi por completo en los compuestos de carbono, cuyo estudio se conoce como *química orgánica*. En segundo lugar, depende casi con exclusividad de reacciones químicas que tienen lugar en soluciones acuosas y en el rango de temperaturas relativamente estrecho que hay en la Tierra. En tercer lugar, es enormemente compleja, incluso la química de la célula más simple es mucho más complicada que cualquier otro sistema químico conocido. En cuarto lugar, está dominada y coordinada por enormes *moléculas poliméricas* –cadenas de **subunidades** químicas unidas en sus extremos– cuyas propiedades únicas permiten que las células y los organismos crezcan y se reproduzcan, y realicen todas las funciones características de la vida. Por último, tiene una regulación estricta: las células despliegan una variedad de mecanismos que garantizan que todas sus reacciones químicas se realicen en el lugar y el tiempo adecuados.

La química, en cierto sentido, dictamina toda la biología. En este capítulo, se analizará brevemente la química de la célula viva. Se conocerán las moléculas que componen las células, y se examinará sus estructuras, formas y propiedades químicas. Estas moléculas determinan el tamaño, la estructura y la función de las células vivas. Al entender la interacción entre estas moléculas, se comprenderá cómo aprovechan las células las leyes de la química y de la física para mantenerse vivas.

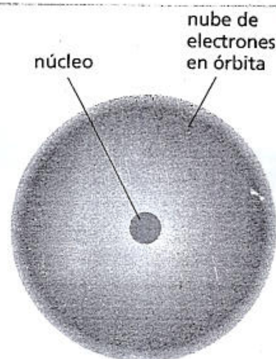


Figura 2-1. El átomo está formado por un núcleo rodeado por una nube de electrones. El núcleo denso, de carga positiva, contiene la mayor parte de la masa del átomo. Los electrones, mucho más livianos y de carga negativa, se ubican alrededor del núcleo, según las leyes de la mecánica cuántica. Los electrones se representan como una nube continua porque no hay manera de predecir con exactitud el lugar en el que se encuentra un electrón en un momento determinado. La densidad del sombreado de la nube es una indicación de la probabilidad de encontrar al electrón. El diámetro de la nube electrónica puede variar desde alrededor de 0,1 nm (en el caso del hidrógeno) hasta cerca de 0,4 nm (en el caso de átomos de número atómico alto). El núcleo es mucho más pequeño: por ejemplo, el núcleo del átomo de carbono mide alrededor de 2×10^{-5} nm.

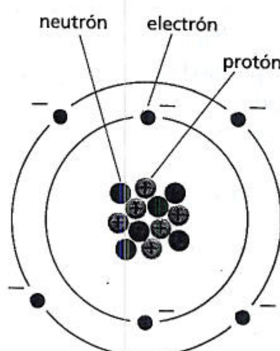
ENLACES QUÍMICOS

La materia está compuesta por una combinación de *elementos*, sustancias con el hidrógeno o el carbono que no se pueden descomponer o convertir en otras sustancias por medios químicos. La partícula más pequeña de un elemento que mantiene sus propiedades químicas es el *átomo*. Las características de las sustanci que no son elementos puros –incluidas las sustancias que componen las células vivas– dependen de los átomos que contienen y del modo en que estos átomos se combinan entre sí para formar moléculas. Por lo tanto, a fin de comprender cóm están constituidos los organismos vivos a partir de la materia inanimada es crucial conocer cómo se forman los enlaces químicos que mantienen unidos a los átomos de una molécula.

Los tipos de átomos que forman las células son relativamente pocos

Cada **átomo** tiene en su parte central un núcleo denso con carga positiva, rodeado a cierta distancia por una nube de **electrones** con carga negativa que se man tienen en órbita alrededor del núcleo por atracción electrostática (Fig. 2-1). El núcleo está formado por dos tipos de partículas subatómicas: los **protones**, que tienen carga positiva, y los *neutrones*, que son eléctricamente neutros. El número d protones presentes en el núcleo del átomo determina su *número atómico*. Un átomo de hidrógeno tiene un solo protón en el núcleo; por consiguiente, el hidrógeno, cuyo número atómico es 1, es el elemento más liviano. Un átomo de car bono tiene seis protones en su núcleo y su número atómico es 6 (Fig. 2-2). La carga eléctrica de un protón es exactamente igual y opuesta a la carga de un solo electrón. El átomo es eléctricamente neutro; el número de electrones con carg negativa que rodean al núcleo es igual al número de protones con carga positiva que contiene el núcleo; por lo tanto, el número de electrones de un átomo también es igual al número atómico. Todos los átomos de un elemento dado tiener el mismo número atómico, y luego se verá que este número determina el comportamiento químico de ese elemento.

Los neutrones son partículas subatómicas sin carga que tienen la misma masa que los protones. Contribuyen a la estabilidad estructural del núcleo –si hay demasiados o muy pocos, el núcleo se puede disgregar por desintegración radiactiva– pero no alteran las propiedades químicas del átomo. Así, un elemento puede existir en diversas formas físicas distinguibles pero idénticas desde el punto de vista químico, denominadas *isótopos*. Cada isótopo tiene distinto número de neutrones pero el mismo número de protones. En la naturaleza, existen múltiples isótopos de casi todos los elementos, algunos de ellos inestables. Por ejemplo, la mayor parte del carbono de la Tierra existe en la forma del isótopo estable carbono-12, que tiene seis protones y seis neutrones, pero también existe un isótopo inestable en pequeña cantidad, el carbono-14 radiactivo, cuyos átomos tienen seis protones y ocho



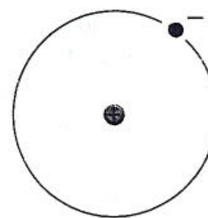


Figura 2-2. El número de protones de un átomo determina su número atómico. Representaciones esquemáticas de un átomo de carbono y de un átomo de hidrógeno. El núcleo de todos los átomos, excepto el del hidrógeno, está formado por protones con carga positiva y neutrones eléctricamente neutros. El número de electrones de un átomo es igual al número de protones, de modo que la carga neta del átomo es igual a cero. En esta figura, se muestran los electrones como partículas individuales, a diferencia de lo que se observa en la figura 2-1. Los círculos negros concéntricos representan de manera muy esquemática las "órbitas" (o sea, las distintas distribuciones) de los electrones. En la realidad, los neutrones, los protones y los electrones son diminutos en relación con el tamaño total del átomo; en esta figura su tamaño está muy exagerado.

neutrones. El carbono-14 sufre desintegración radiactiva a una velocidad lenta pero estable, propiedad en la que se basa la técnica de datación por carbono-14 del material orgánico en arqueología.

El **peso atómico** de un átomo o el **peso molecular** de una molécula, es su masa en relación con la masa del átomo de hidrógeno. En esencia, esto es igual al número de protones más el número de neutrones que contiene el átomo o la molécula, pues los electrones son tan livianos que su contribución a la masa total es casi nula. Así, el principal isótopo del carbono tiene un peso atómico de 12 y se simboliza como ^{12}C. El isótopo inestable del carbono que se mencionó antes tiene un peso atómico de 14 y se escribe ^{14}C. La masa de un átomo o molécula se suele especificar en *daltons*. Un dalton es una unidad de masa atómica aproximadamente igual a la masa de un átomo de hidrógeno.

Los átomos son tan pequeños que es difícil imaginar su tamaño. Un átomo de carbono individual mide unos 0,2 nm de diámetro, lo que significa que se necesitarían unos 5 millones de átomos colocados en línea recta para cubrir un milímetro. Un protón o un neutrón pesan cerca de $1/(6 \times 10^{23})$ gramos. El hidrógeno tiene un solo protón, con un peso atómico de 1, de modo que 1 g de hidrógeno contiene 6×10^{23} átomos. En el caso del carbono, que tiene un peso atómico de doce, 12 gramos de carbono contienen 6×10^{23} gramos. Este número gigantesco (6×10^{23}, llamado **número de Avogadro**) es el factor proporcional clave que describe la relación entre las cantidades que usamos en forma cotidiana y el número de átomos o moléculas individuales. Si una sustancia tiene un peso molecular de M, una masa de M gramos de esa sustancia tendrá 6×10^{23} moléculas. Esta cantidad se conoce como un *mol* de esa sustancia (Fig. 2-3). El concepto de mol se utiliza mucho en química como una forma de representar el número de moléculas disponibles para participar en reacciones químicas.

En la naturaleza, existen 92 elementos, que se diferencian entre sí por el número de protones y electrones de sus átomos. Sin embargo, los organismos vivos, sólo tienen una pequeña selección de estos elementos. El 96,5% del peso de un organismo está formado por cuatro elementos: carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y oxígeno (O). Esta composición difiere mucho de la del ambiente inorgánico inanimado (Fig. 2-4) y constituye una evidencia de un tipo característico de química.

Los electrones más externos determinan cómo interactúan los átomos

Para entender el modo en que se unen los átomos formando las moléculas que componen los organismos vivos, se debe prestar especial atención a sus electrones. En el núcleo, los protones y los neutrones están fuertemente unidos entre sí y sólo se intercambian en condiciones extremas: p. ej., durante la desintegración radiactiva o en el interior del sol o de un reactor nuclear. En los tejidos vivos, sólo los electrones de los átomos sufren reordenamientos. Constituyen la parte accesible del átomo y determinan las leyes de la química por las que se combinan los átomos formando las moléculas.

Los electrones están en constante movimiento alrededor del núcleo, pero en esta escala submicroscópica, los movimientos obedecen a leyes distintas de las que conocemos en la vida diaria. Según estas leyes, los electrones de un átomo sólo pueden existir en determinadas regiones de movimiento definidas –en otras palabras, en órbitas separadas– y hay un límite estricto del número de electrones que pueden ocupar una órbita de un tipo determinado, un así llamado *orbital electrónico*. Los electrones que, en promedio, están más cerca del núcleo positivo son atraídos con más fuerza hacia él y ocupan el orbital más interno y más estrechamente unido. Este orbital puede contener un máximo de dos electrones. El segundo orbital está más alejado del núcleo, y sus electrones están unidos con menor fuerza. En este orbital, puede haber hasta ocho electrones. El tercer orbital, en el que la fuerza de unión de los electrones al núcleo es menor aún, también puede

Un mol es X gramos de una sustancia, donde X es su masa molecular relativa (peso molecular). Un mol contiene 6×10^{23} moléculas de la sustancia.

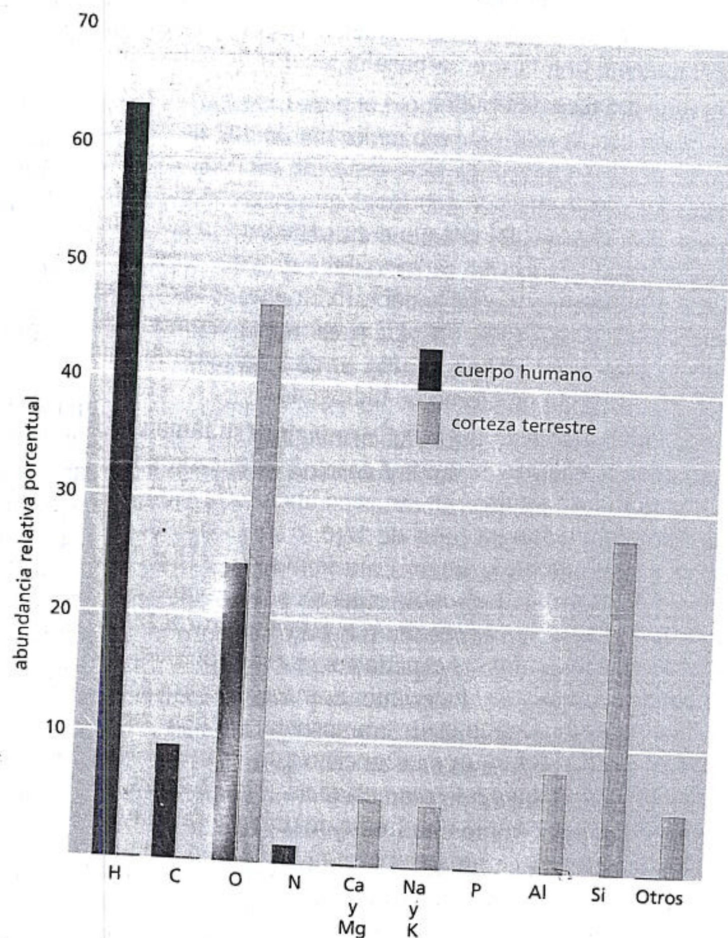
1 mol de carbono pesa 12 g
1 mol de glucosa pesa 180 g
1 mol de cloruro de sodio pesa 58 g

Las soluciones molares tienen una concentración de 1 mol de la sustancia en 1 litro de solución. Por ejemplo, una solución molar (indicada como 1 M) de glucosa tiene 180 g/L, y una solución milimolar (1 mM) tiene 180 mg/L.

La abreviatura convencional de gramo es g; la de litro, L.

Figura 2-3. ¿Qué es un mol? Algunos ejemplos de cálculos de moles y soluciones molares.

Figura 2-4. Los elementos que abundan en la corteza terrestre difieren radicalmente de los que abundan en los tejidos animales. La abundancia de cada elemento se expresa aquí como el porcentaje del número total de átomos presentes en una muestra biológica o geológica, incluida el agua. Así, por ejemplo, más del 60% de los átomos de un organismo vivo son átomos de hidrógeno. La abundancia relativa de los elementos es similar en todos los seres vivos.



PREGUNTA 2-1

Hace 3.000 años se vació un vaso que contenía exactamente 18 g de agua (o un mol) de agua en el Mar Egeo. Si recogiéramos hoy la misma cantidad de agua del Océano Pacífico, ¿cuál sería la probabilidad de que incluyera por lo menos una de esas moléculas de agua "griega"? Suponga una mezcla perfecta y un volumen aproximado de los océanos del mundo de 1,5 mil millones de kilómetros cúbicos ($1,5 \times 10^9$ km³).

contener hasta ocho electrones. Los orbitales cuarto y quinto pueden contener hasta 18 electrones cada uno. En las moléculas biológicas, son muy poco frecuentes los átomos con más de cuatro orbitales.

La disposición de los electrones de un átomo más estable es aquella en la que todos los electrones se encuentran en los estados de unión más fuertes posibles; es decir, cuando ocupan los orbitales más internos y más cercanos al núcleo de carga positiva. Por ende, con algunas excepciones en los átomos más grandes, los electrones de un átomo ocupan los orbitales en orden: el primer orbital antes del segundo, el segundo antes del tercero, etc. Un átomo cuyo orbital más externo está completamente ocupado por electrones es muy estable y en consecuencia químicamente no reactivo. Algunos ejemplos son el helio con 2 electrones (y un número atómico de 2), el neón, con 2 + 8 (número atómico 10) y el argón con 2 + 8 + 8 (número atómico 18); todos estos son gases inertes. El hidrógeno, en cambio, sólo tiene un electrón, y su orbital más externo tiene la mitad del espacio vacío, de modo que es muy reactivo. Todos los demás átomos presentes en los tejidos vivos tienen orbitales electrónicos externos incompletos y, por lo tanto, pueden reaccionar entre sí y formar moléculas (Fig. 2-5).

Un orbital electrónico incompleto es menos estable que un orbital completo, de modo que los átomos cuyos orbitales externos están incompletos tienen una fuerte tendencia a interactuar con otros átomos ganando o perdiendo los electrones que sean necesarios a fin de lograr un orbital externo completo. Este intercambio de electrones se puede producir transfiriendo electrones de un átomo a otro o compartiendo electrones entre dos átomos. Estas dos estrategias generan dos tipos de **enlaces químicos** entre los átomos: cuando un átomo cede electrones a otro se produce un *enlace iónico*, y cuando dos átomos comparten un par de electrones se forma un *enlace covalente* (Fig. 2-6). En el caso de un enlace covalente, el par de electrones a menudo se comparte de manera desigual, y un átomo atrae a los electrones compartidos con mayor fuerza que el otro, lo que da lugar a un *enlace covalente polar*, como se verá más adelante.

número atómico ↓ — orbital electrónico

	elemento	I	II	III	IV
1	Hidrógeno	●			
2	Helio	●●			
6	Carbono	●●	●●●●		
7	Nitrógeno	●●	●●●●●		
8	Oxígeno	●●	●●●●●●		
10	Neón	●●	●●●●●●●●		
11	Sodio	●●	●●●●●●●●	●	
12	Magnesio	●●	●●●●●●●●	●●	
15	Fósforo	●●	●●●●●●●●	●●●●●	
16	Azufre	●●	●●●●●●●●	●●●●●●	
17	Cloro	●●	●●●●●●●●	●●●●●●●	
18	Argón	●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	
19	Potasio	●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●
20	Calcio	●●	●●●●●●●●	●●●●●●●●	●●

Figura 2-5. La reactividad química de un elemento depende de si su orbital externo está completo o incompleto. Todos los elementos presentes en los seres vivos tienen orbitales externos incompletos *(rojo)* y, por consiguiente, pueden participar en reacciones químicas con otros átomos. Los gases inertes *(amarillo)*, en cambio, tienen solo orbitales completos y por ende no son químicamente reactivos.

Un átomo de H, que sólo necesita un electrón más para completar su orbital, en general lo adquiere compartiéndolo; es decir, formando un enlace covalente con otro átomo; en muchos casos, este enlace es polar. Los restantes elementos más comunes en las células vivas –C, N y O, que tienen incompleto su segundo orbital, y el fósforo (P) y el azufre (S), que tienen su tercer orbital incompleto (véase Fig. 2-5)– suelen compartir electrones y completan su orbital externo de ocho electrones mediante la formación de varios enlaces covalentes. El número de electrones que un átomo debe adquirir o perder (sea compartiéndolos o transfiriéndolos) determina la cantidad de enlaces que puede formar el átomo.

Como el estado del orbital electrónico más externo determina las propiedades químicas de un elemento, cuando los elementos se ordenan según su número atómico, se observa una recurrencia periódica de elementos con propiedades similares: p. ej., un elemento con su segundo orbital incompleto, ocupado por un electrón, se comportará de una manera muy similar a la de un elemento que tiene completo su segundo orbital pero incompleto el tercero, con un solo electrón. Por ejemplo, todos los metales tienen sus orbitales más externos incompletos, con un solo electrón o con pocos electrones, mientras que los gases inertes, como ya se vio, tienen sus orbitales externos completos. Esta disposición dio origen a la famosa *tabla periódica* de los elementos, que se ilustra en la figura 2-7. Los elementos que se encuentran en los organismos vivos están resaltados.

PREGUNTA 2-2

Un átomo de carbono contiene seis protones y seis neutrones.

A. ¿Cuál es su número atómico y cuál su peso atómico?

B. ¿Cuántos electrones tiene?

C. ¿Cuántos electrones adicionales debe recibir para completar su orbital externo? ¿Cómo influye esto en el comportamiento químico del carbono?

D. El carbono con un peso atómico de 14 es radiactivo. ¿En qué se diferencia su estructura de la del carbono no radiactivo? ¿Cómo influye esta diferencia en su comportamiento químico?

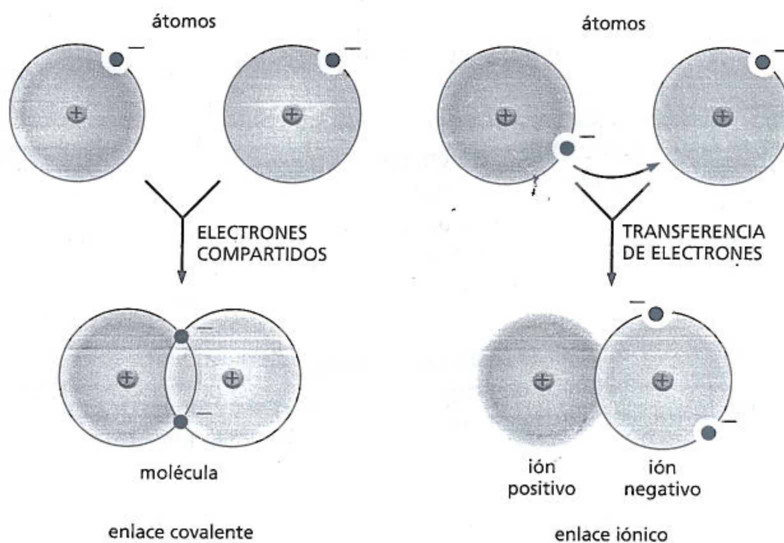


Figura 2-6. Los átomos pueden alcanzar una disposición de electrones más estable en su orbital externo al interactuar entre sí. Cuando los átomos comparten electrones, se forma un enlace covalente. Cuando un átomo transfiere electrones a otro átomo, se forma un enlace iónico. Los dos casos que se muestran en la figura representan extremos; a menudo los enlaces covalentes se forman por transferencia parcial (los electrones se comparten de manera desigual), y el resultado es un enlace covalente polar (véase, por ejemplo, la figura 3-12).

número atómico

peso atómico

Figura 2-7. Los elementos ordenados según su número atómico forman la tabla periódica. Los elementos se pueden dividir en grupos con propiedades similares sobre la base del número de electrones que tiene cada elemento en su orbital externo. Los átomos de la misma columna vertical deben ganar (o perder) la misma cantidad de electrones para completar su orbital externo. Así, el Mg y el Ca tienden a ceder los dos electrones de su orbital externo.
Los cuatro elementos resaltados en *rojo* constituyen el 99% del número total de átomos presentes en el cuerpo humano. Otros siete elementos, resaltados en *azul*, representan juntos cerca del 0,9% del total. Los seres humanos requieren cantidades vestigio de los elementos resaltados en *verde*. No está claro si los elementos resaltados en *amarillo* son esenciales o no para el ser humano. Parece ser que la química de la vida es sobre todo la química de los elementos más livianos.
Los pesos atómicos, determinados por la suma de protones y neutrones del núcleo del átomo, pueden variar según el isótopo particular del elemento. Los pesos atómicos aquí mostrados son los que corresponden al isótopo más común de cada elemento.

Los enlaces iónicos se forman por ganancia o pérdida de electrones

Por lo general, los enlaces iónicos están formados por átomos que tienen sólo uno o dos electrones en su orbital externo incompleto o a los que sólo les falta adquirir uno o dos electrones para completar su orbital externo. Para éstos átomos, en general es más fácil completar su orbital electrónico externo cediendo electrones a otro átomo o aceptando electrones de otro átomo que compartiéndolos. Por ejemplo, en la figura 2-5, se puede ver que un átomo de sodio (Na), cuyo número atómico es 11, puede ceder el único electrón de su orbital externo (el tercer orbital) y quedar con un orbital externo completo (el segundo orbital). En cambio, un átomo de cloro (Cl), cuyo número atómico es 17, puede completar su orbital externo al ganar un solo electrón. En consecuencia, si un átomo de Na se encuentra con un átomo de Cl, puede saltar un electrón del Na al Cl y ambos átomos quedarán con sus orbitales externos completos. El producto de esta unión entre el sodio, un metal suave intensamente reactivo y el cloro, un gas tóxico verde, es la sal de mesa (NaCl).

Cuando un electrón salta del Na al Cl ambos átomos se convierten en **iones** con carga eléctrica. El átomo de Na que ha perdido un electrón tiene ahora un electrón menos que la cantidad de protones que tiene el núcleo y, por lo tanto, tiene una carga positiva neta (Na^+). El átomo de Cl que ha ganado un electrón tiene ahora un electrón más que la cantidad de protones, y por consiguiente, su carga es negativa (Cl^-). Los iones positivos se denominan *cationes*, y los iones negativos, *aniones*. Los iones se pueden clasificar según la cantidad de electrones que ceden o adquieren. El Na y el potasio (K) pueden ceder un solo electrón y forman cationes que tienen una única carga positiva (Na^+ y K^+); el magnesio y el calcio pueden ceder dos electrones y forman cationes que tienen dos cargas positivas (Mg^{2+} y Ca^{2+}).

Como tienen cargas opuestas, el Na^+ y el Cl^- se atraen entre sí y se mantienen unidos por medio de un **enlace iónico**. Un cristal de sal contiene cantidades astronómicas de Na^+ y de Cl^- unidos en una disposición tridimensional precisa con sus cargas opuestas exactamente equilibradas: un cristal de sólo 1 mm de ancho contiene unos 2×10^{19} iones de cada tipo (Fig. 2-8). Las sustancias como el NaCl, que se mantienen unidas solo por enlaces iónicos, se denominan *sales* en lugar de moléculas.

Los enlaces iónicos son un tipo de **atracción electrostática**: una fuerza de atracción que se produce entre dos átomos con cargas opuestas (véase Lámina 2-7, pp. 76-77). Debido a la interacción favorable entre los iones y las moléculas de agua (que son polares) muchas sales (como el NaCl) son muy solubles en agua. Estas sales se disocian en iones individuales (como el Na^+ y el Cl^-), cada uno rodeado por un grupo de moléculas de agua. Más adelante, en este capítulo, se analizan las atracciones electrostáticas y los otros *enlaces no covalentes* que existen entre los átomos.

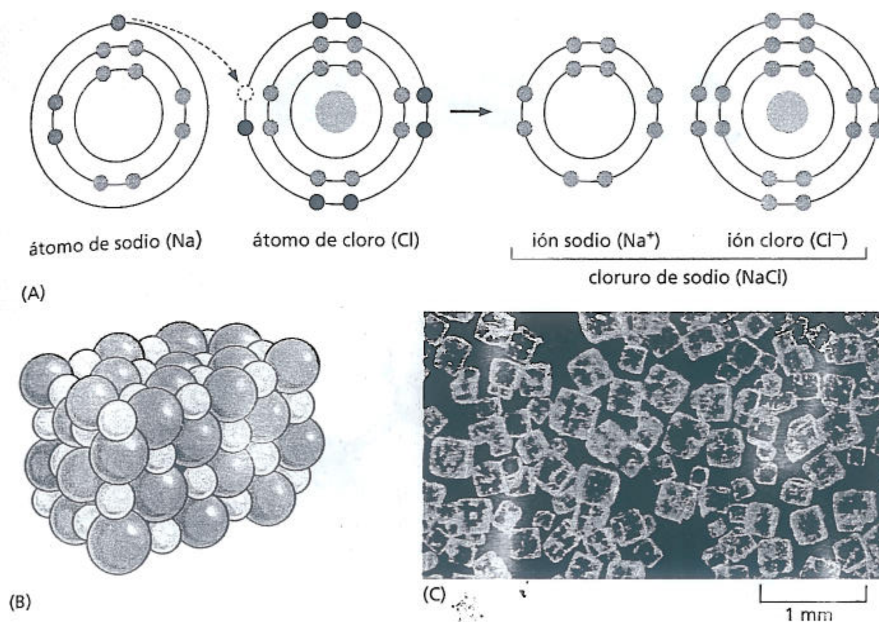


Figura 2-8. El cloruro de sodio se mantiene unido por la formación de enlaces iónicos. (A) Un átomo de sodio (Na) reacciona con un átomo de cloro (Cl). Se muestran los electrones de cada átomo en sus diferentes niveles de energía; los electrones de los orbitales químicamente reactivos (incompletos) se muestran en *rojo*. La reacción se produce por transferencia de un electrón del sodio al cloro, lo que forma dos átomos eléctricamente cargados, o iones, cada uno con grupos de electrones completos en sus niveles más externos. Los dos iones con carga opuesta se mantienen unidos por atracción electrostática. (B) El producto de la reacción entre el sodio y el cloro, el cloruro de sodio cristalino, contiene iones de sodio y cloro estrechamente unidos en una disposición regular en la que las cargas están perfectamente equilibradas. (C) Fotografía en color de cristales de cloruro de sodio.

Los enlaces covalentes se forman cuando dos átomos comparten electrones

Todas las características de una célula dependen de las moléculas que contiene. Una **molécula** es una agrupación de átomos que se mantienen unidos por **enlaces covalentes** en los que los átomos comparten electrones en lugar de transferirlos entre sí. Los electrones compartidos completan los orbitales externos de ambos átomos. En la molécula más simple –la molécula de hidrógeno (H_2)– los dos átomos de H, cada uno con un solo electrón, comparten dos electrones y así completan sus orbitales externos. Los electrones compartidos forman una nube de carga negativa, que es más densa entre los dos núcleos de carga positiva. Esta densidad electrónica ayuda a que los núcleos se mantengan unidos porque contrarresta el rechazo mutuo entre las cargas iguales que, de lo contrario, los alejaría. Cuando los núcleos están separados por una distancia característica, denominada **longitud del enlace**, las fuerzas de atracción y rechazo se encuentran en equilibrio (Fig. 2-9).

El átomo de H puede formar un solo enlace covalente pero los otros átomos comunes que forman enlaces covalentes en las células –los átomos de O, N, S y P, así como el más importante: el átomo de C– pueden formar más de uno. Los orbitales más externos de estos átomos, como se ha mencionado, pueden contener hasta ocho electrones y forman enlaces covalentes con tantos átomos como sea necesario para alcanzar este número. El oxígeno, que tiene seis electrones en su orbital externo, es más estable cuando adquiere dos electrones adicionales al compartirlos con otro átomo y, por consiguiente, puede formar hasta dos enlaces covalentes. El nitrógeno, con cinco electrones en su orbital externo, forma un máximo de tres enlaces covalentes, y el carbono, con cuatro electrones en el orbital externo, forma hasta cuatro enlaces covalentes, de modo que comparte cuatro pares de electrones (véase Fig. 2-5).

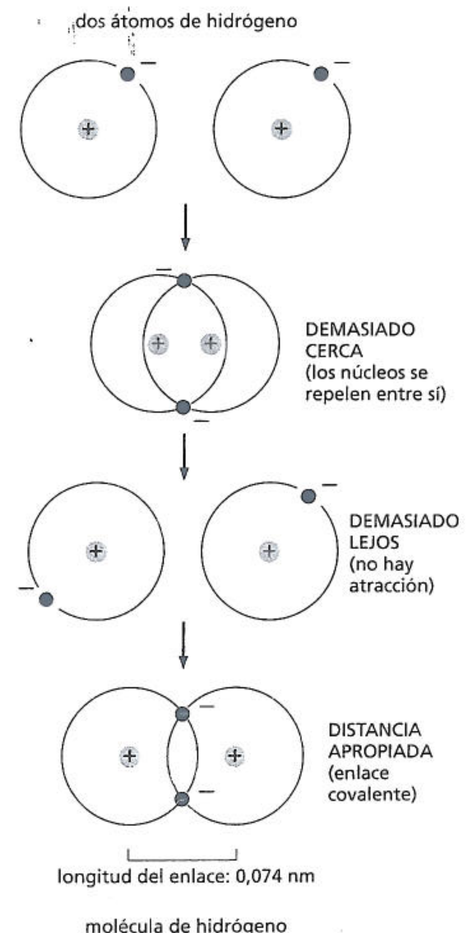


Figura 2-9. La molécula de hidrógeno se mantiene unida por un enlace covalente. Cada átomo de hidrógeno aislado tiene un único electrón, lo que significa que su primer (y único) orbital electrónico está incompleto. Al acercarse, los dos átomos pueden compartir los dos electrones, y cada uno logra completar su primer orbital; los electrones compartidos adoptan órbitas modificadas alrededor de ambos núcleos. El enlace covalente entre los dos átomos tienen una longitud definida (0,074 nm). Si los átomos estuvieran más cerca, los núcleos positivos se repelerían; si estuvieran demasiado alejados no podrían compartir los electrones de manera tan eficaz.

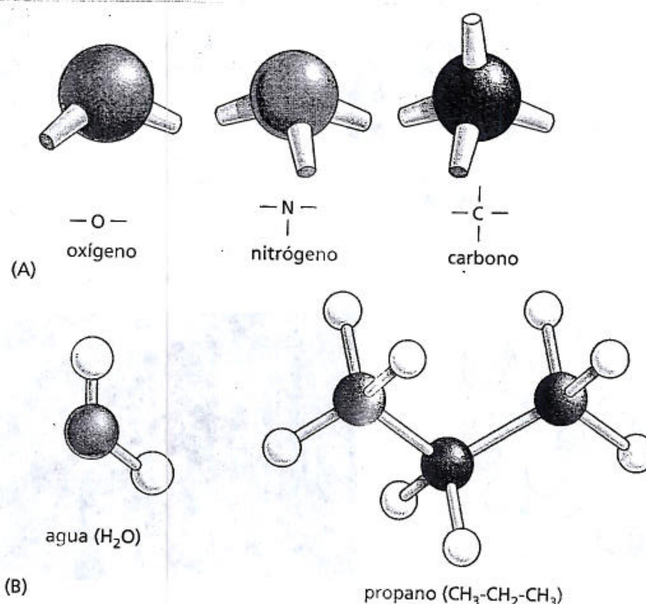


Figura 2-10. Los enlaces covalentes se caracterizan por geometrías particulares. (A) Disposición espacial de los enlaces covalentes que pueden formar el oxígeno, el nitrógeno y el carbono. (B) Las moléculas formadas a partir de estos átomos tienen una estructura tridimensional precisa definida por los ángulos y por las longitudes de cada enlace covalente. Una molécula de agua, por ejemplo, forma una "V" con un ángulo cercano a 109°. En estos modelos de bolas y varillas, las distintas bolas coloreadas representan a los átomos, y las varillas, los enlaces covalentes. En 1865, el químico August Wilhelm Hofmann estableció los colores que se utilizan en forma tradicional para representar a los distintos átomos –*negro* para el carbono, *blanco* para el hidrógeno, *azul* para el nitrógeno y *rojo* para el oxígeno– al construir modelos moleculares con un conjunto de bolas de croquet para una conferencia pública sobre el "poder de combinación" de los átomos.

Cuando un átomo forma enlaces covalentes con varios otros, estos enlaces múltiples tienen una orientación espacial definida unos respecto de otros, lo que refleja las orientaciones de las órbitas de los electrones compartidos. En consecuencia, los enlaces covalentes entre múltiples átomos se caracterizan por ángulos de enlace específicos así como por longitudes y energías de enlace también específicos (Fig. 2-10). Los cuatro enlaces covalentes que se pueden formar alrededor de un átomo de carbono, por ejemplo, están orientados como si apuntaran hacia los cuatro extremos de un tetraedro regular. La orientación precisa de los enlaces covalentes alrededor del carbono es la base de la geometría tridimensional de las moléculas orgánicas.

Los enlaces covalentes pueden tener distinta fuerza

Ya hemos visto que el enlace covalente entre dos átomos tiene una longitud característica que depende de los átomos que lo componen. Otra propiedad crucial de todo enlace –covalente o no covalente– es su fuerza. La *fuerza del enlace* se mide por la cantidad de energía que se debe utilizar para romper el enlace, que por lo general se expresa en unidades de kilocalorías por mol (kcal/mol) o kilojoules por mol (kJ/mol). Una kilocaloría es la cantidad de energía necesaria para elevar la temperatura de un litro de agua en un grado centígrado. Si se necesita 1 kilocaloría de energía para romper 6×10^{23} enlaces de un tipo específico (es decir 1 mol de estos enlaces), la fuerza de este enlace es de 1 kcal/mol. La otra unidad, kJ/mol, derivada de las unidades del SI (Système Internationale d'Unités) utilizadas universalmente por los físicos, que se está aceptando cada vez más en biología. Una kilocaloría es igual a alrededor de 4,2 kilojoules. En el Cuadro 2-1, se muestran los valores de fuerza y longitud típicos de las principales clases de enlaces químicos.

Para tener una idea de lo que significan las fuerzas de enlace, es útil compararlas con las energías promedio de los impactos a los que las moléculas están sometidas constantemente debido a la colisión con otras moléculas de su entorno: la energía térmica o calórica. Los enlaces covalentes típicos son 100 veces más fuertes que estas energías térmicas y, por ende, no se separan por movimientos térmicos (calentamiento) sino sólo durante reacciones químicas específicas con otros átomos y moléculas. La formación y la rotura de los enlaces covalentes son eventos violentos, y en las células vivas, estos eventos son controlados en forma cuidadosa por catalizadores muy específicos, denominados *enzimas*. Como regla general, los enlaces no covalentes son mucho más débiles y, como se verá luego, tienen una importancia crucial en la célula, en muchas situaciones en las que las moléculas se deben asociar y disociar con rapidez para realizar sus funciones.

CUADRO 2-1 LONGITUD Y FUERZA DE LOS ENLACES QUÍMICOS

TIPO DE ENLACE		LONGITUD (nm)	FUERZA (kcal/mol)	
			EN EL VACÍO	EN EL AGUA
Covalente		0,15	90 (377)**	90 (377)
No covalente:	iónico	0,25	80 (335)	3 (12,6)
	de hidrógeno	0,30	4 (16,7)	1 (4,2)
	fuerzas de atracción de van der Waals (por átomo)	0,35	0,1 (0,4)	0,1 (0,4)

*Un enlace iónico es una atracción electrostática entre dos átomos completamente cargados.
** Los valores indicados entre paréntesis están en kJ/mol. Una caloría = 4,184 joules.

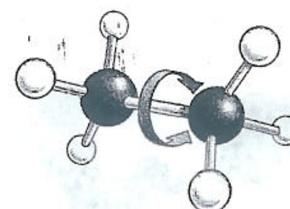
Cuadro 2-1. Los enlaces químicos covalentes y los no covalentes tienen diferentes longitudes y fuerzas. Las fuerzas de los enlaces se miden por energía requerida para romperlos, en kilocalorías o kilojonles/mol (véase el glosario para la definición de estas unidades). La longitud de un enlace de hidrógeno X-H-X se define como la distancia entre los dos átomos no hidrógeno (X). Las fuerzas y longitudes que se mencionan son aproximadas, debido a que los valores exactos dependen de los átomos involucrados. Los diferentes tipos de enlaces no covalentes se describen más adelante en el capítuo (véase lámina 2-7, pp. 76-77).

Existen distintos tipos de enlaces covalentes

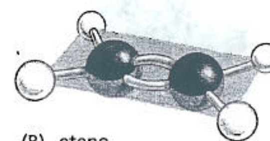
En la mayoría de los enlaces covalentes se comparten dos electrones, cada uno cedido por cada átomo participante; estos enlaces se denominan *enlaces simples*. Sin embargo, en algunos enlaces covalentes, se comparten más de un par de electrones. Por ejemplo, cada átomo puede ceder dos electrones; este tipo de enlace se denomina *enlace doble*. Los enlaces dobles son más cortos y más fuertes que los enlaces simples y tienen un efecto característico sobre la geometría tridimensional de las moléculas que los contienen. Por lo general, un enlace covalente simple entre dos átomos permite la rotación de una parte de la molécula en relación con la otra alrededor del eje del enlace. Un enlace doble impide esta rotación, lo que genera una disposición más rígida y menos flexible de los átomos (Fig. 2-11). Esta restricción tiene una influencia importante sobre la forma tridimensional de muchas macromoléculas. En la lámina 2-1 (pp. 66-67), se reseñan los enlaces químicos frecuentes en las moléculas biológicas.

Algunas moléculas contienen átomos que comparten electrones de una manera que produce enlaces de tipo intermedio entre el enlace simple y el enlace doble. Por ejemplo, la molécula de benceno, que es muy estable, está compuesta por un anillo de seis átomos de carbono en el cual los electrones que conforman los enlaces están distribuidos de manera uniforme (aunque a veces esta disposición se representa como una secuencia en la que alternan enlaces simples y enlaces dobles, como se muestra en la lámina 2-1).

Cuando los átomos unidos por un enlace covalente simple pertenecen a elementos diferentes, el grado de atracción que ejerce cada átomo sobre los electrones compartidos suele ser distinto. Por ejemplo, en comparación con el átomo de C, la atracción que ejercen los átomos de O y de N sobre los electrones es más fuerte, mientras que la que ejerce el átomo de H es más débil (debido a las diferencias relativas de sus cargas positivas). Por definición, una estructura **polar** (desde el punto de vista eléctrico) es aquella en la que la carga positiva se concentra en un extremo de la molécula (el polo positivo), y la carga negativa, en el otro (el polo negativo). Por lo tanto, los enlaces covalentes en los que se comparten electrones de esta manera desigual se denominan enlaces covalentes polares. Por ejemplo, el enlace covalente entre el oxígeno y el hidrógeno, –O–H, o entre el nitrógeno y el hidrógeno, –N–H, es polar (Fig. 2-12). En cambio, el enlace entre el carbono y el hidrógeno, –C–H, es relativamente no polar, porque la atracción que ejercen ambos átomos sobre los electrones es mucho más pareja.



(A) etano



(B) eteno

Figura 2-11. Los enlaces carbono-carbono dobles son más cortos y más rígidos que los enlaces carbono–carbono simples. (A) La molécula de etano, con un enlace covalente simple entre los dos átomos de carbono, muestra la disposición tetraédrica de los enlaces covalentes simples que forma el carbono. Uno de los grupos CH_3 unido por un enlace covalente puede rotar respecto del otro alrededor del eje del enlace. (B) El enlace doble entre los dos átomos de carbono en la molécula de eteno (etileno) altera la geometría del enlace de los átomos de carbono y lleva a todos los átomos al mismo plano; el enlace doble impide la rotación de un grupo CH_2 respecto del otro.

Las atracciones electrostáticas ayudan a unir las moléculas de las células

En soluciones acuosas, los enlaces covalentes son de 10 a 100 veces más fuertes que las otras fuerzas de atracción entre átomos, lo que permite que sus conexiones definan los límites entre una molécula y otra. Pero gran parte de la biología depende de la unión específica de diferentes moléculas entre sí. Esta unión es mediada por un grupo de atracciones no covalentes que son, individualmente,

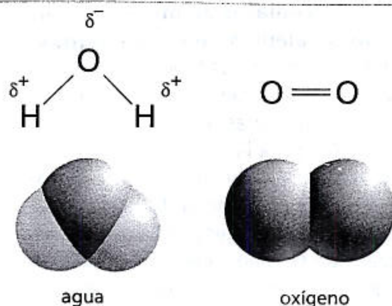


Figura 2-12. En los enlaces covalentes polares, los electrones se comparten de manera desigual. Comparación de las distribuciones de los electrones en moléculas polares como el agua (H_2O) y moléculas no polares como el oxígeno (O_2). δ+ indica carga positiva parcial; δ− indica carga negativa parcial.

bastante débiles, pero cuyas energías se pueden sumar y crear una fuerza eficaz entre dos moléculas distintas. Ya se han descrito los enlaces iónicos que mantienen juntos a los iones Na+ y Cl− en un cristal de sal. Las atracciones electrostáticas alcanzan su máxima fuerza cuando los átomos involucrados están totalmente cargados, como lo están el Na+ y el Cl−. Pero también hay una atracción electrostática más débil entre las moléculas que contienen enlaces covalentes polares.

Así, los enlaces covalentes polares son muy importantes en biología porque permiten la interacción entre las moléculas a través de fuerzas eléctricas. Cualquier molécula grande con muchos grupos polares tendrá un patrón de cargas parciales positivas y negativas en su superficie. Cuando esta molécula encuentre a otra molécula con cargas complementarias, ambas experimentarán atracción electrostática, que se asemeja a los enlaces iónicos (pero es más débil) que mantienen unidas a las sales, como en el caso del NaCl. Cuando se forman suficientes enlaces no covalentes débiles de este tipo entre dos moléculas grandes, sus superficies se adherirán entre sí en forma específica, como se ilustra en la **figura 2-13**. Sin embargo, el agua reduce mucho la atracción de estas cargas entre sí en la mayor parte de los contextos biológicos.

PREGUNTA 2-3

Analice si la siguiente afirmación es correcta: "Un enlace iónico puede ser considerado, en principio, como un enlace covalente muy polar. Por consiguiente, los enlaces covalentes polares se ubican en algún sitio entre los enlaces iónicos en un extremo del espectro y los enlaces covalentes no polares en el otro".

El agua se mantiene unida por enlaces de hidrógeno

El agua representa cerca del 70% del peso de la célula, y la mayor parte de las reacciones intracelulares ocurren en un medio acuoso. Se cree que la vida en la Tierra comenzó en el océano, y que las condiciones imperantes en ese ambiente primitivo dejaron un sello permanente en la química de los seres vivos. En consecuencia, la química de la vida ha sido modelada por las propiedades del agua.

En cada molécula de agua (H2O), los dos átomos de H están unidos al átomo de O por enlaces covalentes. Los dos enlaces son altamente polares porque el O atrae con mayor fuerza a los electrones, mientras que el H los atrae sólo débilmente. En consecuencia, los electrones se distribuyen en forma desigual en la molécula de agua, con preponderancia de carga positiva en los dos átomos de H y carga negativa en el átomo de O (véase Fig. 2-12). Cuando una región con carga positiva de una molécula de agua (es decir, uno de sus átomos de H) se acerca a una región con carga negativa de una segunda molécula de agua (es decir, el O), la atracción eléctrica entre ellas puede establecer un enlace débil denominado enlace de hidrógeno. Estos enlaces son mucho más débiles que los enlaces covalentes y se rompen con facilidad por acción de los movimientos térmicos aleatorios debidos a la energía calórica de las moléculas, de manera que cada enlace persiste sólo durante un tiempo sumamente breve. Sin embargo, el efecto combinado de muchos enlaces débiles dista de ser trivial. Cada molécula de agua puede formar enlaces de hidrógeno a través de sus dos átomos de H con otras dos moléculas de agua, lo que produce una red en la que los enlaces de hidrógeno se forman y se rompen en forma continua. Estos enlaces de hidrógeno entrelazados son los que mantienen al agua en estado líquido a temperatura ambiente –con un punto de ebullición alto y una alta tensión superficial– y no en estado gaseoso. La vida que conocemos no podría existir sin enlaces de hidrógeno. En la **lámina 2-2** (pp. 66-67), se repasan las propiedades del agua significativas desde el punto de vista biológico.

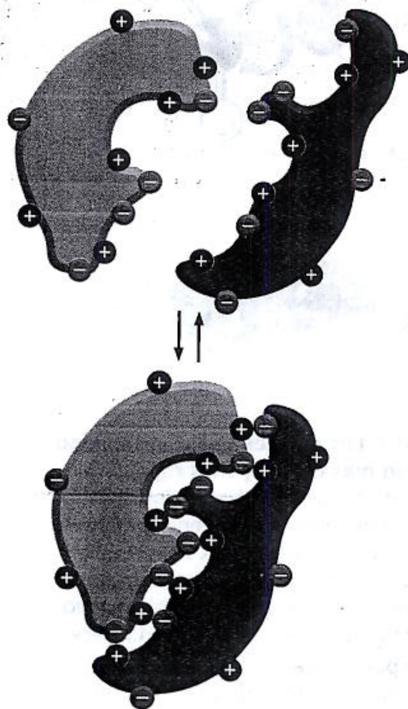


Figura 2-13. Las moléculas grandes, por ejemplo las proteínas, se pueden unir entre sí a través de cargas complementarias en sus superficies.

No todos los átomos de hidrógeno forman enlaces de hidrógeno. En general, los enlaces de hidrógeno se forman cuando un H con carga positiva que es mantenido en una molécula mediante un enlace covalente polar se acerca a un átomo con carga negativa –típicamente, un átomo de oxígeno o de nitrógeno– perteneciente a otra molécula. También se pueden formar enlaces de hidrógeno entre distintas partes de una misma molécula grande, en la que con frecuencia ayudan a crear formas especiales. No obstante, el enlace de hidrógeno es sólo un miembro de una familia de enlaces no covalentes débiles que desempeñan un papel crucial en permitir que las grandes moléculas se plieguen de maneras singulares y se unan en forma selectiva a otras moléculas, como se analiza más adelante en este capítulo.

Las moléculas, como los alcoholes, que contienen enlaces polares y que pueden

formar enlaces de hidrógeno, se mezclan bien con el agua. Como ya se mencionó, las moléculas que tienen cargas positivas o negativas (iones) también se disuelven con facilidad en el agua. Estas moléculas se denominan **hidrófilas**, lo que significa que tienen afinidad por el agua. Una gran proporción de las moléculas del medio acuoso de la célula pertenecen necesariamente a esta categoría, como azúcares, DNA, RNA y la mayor parte de las proteínas. Las moléculas **hidròfobas** (que le temen al agua), en cambio, no tienen carga y forman pocos enlaces de hidrógeno o ninguno, de modo que no se disuelven en agua. Los hidrocarburos representan un ejemplo de componentes celulares hidrófobos (véase Lámina 2-1, pp. 64-65). En estas moléculas, los átomos de H se unen a los átomos de C por medio de enlaces covalentes, en su mayor parte no polares. Los átomos de H casi no tienen carga positiva neta, de manera que no pueden formar enlaces de hidrógeno eficaces con otras moléculas. Por este motivo, los hidrocarburos son por entero hidrófobos, una propiedad que es aprovechada por las células, cuyas membranas están compuestas por moléculas que tienen largas colas de hidrocarburos, como se verá en el capítulo 11. Como no se disuelven en agua, los hidrocarburos hidrófobos pueden formar las delgadas barreras de membrana que separan el interior acuoso de la célula del medio externo, también acuoso.

Algunas moléculas polares forman ácidos y bases en agua

Una de las reacciones químicas más simples y que tiene una enorme importancia para las células, se produce cuando se disuelve en agua una molécula que posee un enlace covalente muy polar entre un átomo de hidrógeno y otro átomo. El átomo de hidrógeno de una molécula de este tipo cede su electrón casi por completo al otro átomo y, por consiguiente, se convierte en un núcleo de hidrógeno con carga positiva casi desnudo; en otras palabras, un *protón* (H^+). Cuando la molécula polar quede rodeada por moléculas de agua, el protón será atraído por la carga negativa parcial del átomo de O de una molécula de agua adyacente; este protón puede disociarse del primer átomo y asociarse con el átomo de oxígeno de la molécula de agua, lo que genera un **ión hidronio** (H_3O^+) (Fig. 2-14A). La reacción inversa también se produce con mucha facilidad, de modo que podemos imaginarnos un estado de equilibrio donde miles de millones de protones están desplazándose constantemente entre una y otra molécula de la solución acuosa.

Las sustancias que liberan protones al disolverse en agua, lo que forma H_3O^+, se denominan **ácidos**. Cuanto más alta sea la concentración de H_3O^+, mayor será la acidez de la solución. El H_3O^+ se encuentra presente incluso en el agua pura, en una concentración de 10^{-7} M, como consecuencia del movimiento de los protones entre una y otra molécula de agua (Fig. 2-14B). Tradicionalmente, nos referimos a la concentración de H_3O^+ como la concentración de H^+, aunque la mayoría de los protones en la solución acuosa están presentes como H_3O^+. Para evitar el uso de cifras difíciles de manejar, la concentración de H_3O^+ se expresa mediante una escala logarítmica, denominada **escala de pH**, como se ilustra en la lámina 2-2. El agua pura tiene un pH de 7,0 y, por lo tanto, es neutra; es decir, no es ácida (pH < 7) ni básica (pH > 7).

PREGUNTA 2-4

Indique si hay algún error en la siguiente afirmación: "Cuando el NaCl se disuelve en agua, las moléculas de agua más cercanas a los iones tienden a orientarse de manera que sus átomos de oxígeno queden frente a los iones de sodio y se alejen de los iones de cloro". Justifique su respuesta.

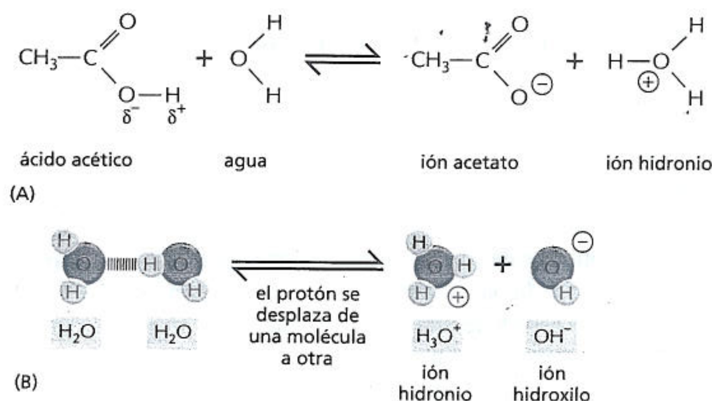


Figura 2-14. Los protones se mueven continuamente en soluciones acuosas. (A) Reacción que se produce cuando una molécula de ácido acético se disuelve en agua. A pH 7, casi todo el ácido acético está presente como ión acetato. (B) Las moléculas de agua están intercambiando constantemente protones entre sí y forman iones hidronio e iones hidroxilo. A su vez, estos iones se recombinan con rapidez y forman moléculas de agua.

Los ácidos pueden ser fuertes o débiles, según la facilidad que tengan para ceder sus protones al agua. Los ácidos fuertes, como el ácido clorhídrico (HCl), pierden sus protones con rapidez. Por el contrario, el ácido acético es un ácido débil porque tiende a mantener su protón al disolverse en agua. Muchos de los ácidos importantes de la célula –como las moléculas que contienen un grupo carboxilo (COOH)– son ácidos débiles (véase Lámina 2-2, pp. 66-67). Su tendencia a disociarse con cierta reticencia es una característica útil; vuelve a las superficies de las grandes moléculas sensibles a las condiciones del medio celular.

Como el protón de un ión hidronio puede pasar con facilidad a muchos tipos de moléculas celulares, lo que altera su carácter, la concentración de H_3O^+ (acidez) intracelular se debe regular cuidadosamente. Los ácidos –en especial los ácidos débiles– ceden sus protones con mayor facilidad si la concentración de H_3O^+ de la solución es baja y tienden a recuperarlos si la concentración de H_3O^+ de la solución es alta.

PREGUNTA 2-5

A. ¿Existen iones H_3O^+ en el agua pura a pH neutro (pH = 7,0)? Si la respuesta es afirmativa, ¿cómo están formados?
B. En caso de que existan, ¿cuál es la relación entre los iones H_3O^+ y las moléculas de agua a un pH neutro? (Pista: el peso molecular del agua es 18 y un litro de agua pesa 1 kg.)

Lo opuesto a un ácido es una **base**. Se denomina base a cualquier molécula capaz de aceptar un protón. Así como la propiedad que define a un ácido es que aumenta la concentración de iones H_3O^+ cediendo un protón a una molécula de agua, la propiedad que define a una base es que aumenta la concentración de iones hidroxilo (OH^-) eliminando un protón de una molécula de agua. El hidróxido de sodio (NaOH) es básico (se utiliza también el término *alcalino*) porque se disocia en solución acuosa formando iones Na^+ y OH^-. El NaOH es una base fuerte porque se disocia con facilidad en el agua. De todos modos, en las células vivas, tienen mayor importancia las bases débiles: aquellas que tienen una tendencia débil a aceptar un protón de una molécula de agua en forma reversible. Muchas bases débiles de importancia biológica contienen un grupo amino (NH_2). Este grupo puede generar OH^- tomando un protón de la molécula de agua: $-NH_2 + H_2O \rightarrow NH_3^+ + OH^-$ (véase Lámina 2-2, pp. 66-67).

Como un ión OH^- se combina con un ión H_3O^+ y forma dos moléculas de agua, un aumento de la concentración de OH^- determina una disminución de la concentración de H_3O^+, y viceversa. Así, una solución de agua pura contiene una concentración igual (10^{-7} M) de ambos iones, lo que la torna neutra. El interior de la célula también se mantiene cerca de la neutralidad mediante la presencia de **amortiguadores** (***buffers***): ácidos y bases débiles que pueden liberar o captar protones cerca del pH 7, lo que mantiene el medio celular relativamente constante en diversas condiciones.

LAS MOLÉCULAS DE LAS CÉLULAS

Ya se ha visto las formas en que se combinan los átomos y forman moléculas pequeñas y cómo se comportan estas moléculas en un medio acuoso. Ahora se examinarán los principales tipos de moléculas pequeñas presentes en las células y sus funciones biológicas. Resultará sorprendente observar que algunas categorías básicas de moléculas, formadas por unos pocos elementos diferentes, dan origen a toda la extraordinaria riqueza de formas y comportamientos que muestran los seres vivos.

La célula está formada por compuestos de carbono

A excepción del agua, casi todas las moléculas de una célula están compuestas básicamente por carbono. El carbono se destaca del resto de los elementos por su capacidad para formar grandes moléculas; el silicio –que tiene la misma configuración electrónica en su orbital externo– le sigue de lejos. Como el carbono es pequeño y tiene cuatro electrones y cuatro espacios libres en su orbital externo, un átomo de carbono puede formar cuatro enlaces covalentes con otros átomos. Algo más importante todavía es que un átomo de carbono se puede unir a otros átomos de carbono a través de enlaces covalentes C–C muy estables para formar cadenas y anillos, y generar así moléculas grandes y complejas cuyo tamaño no tiene un límite evidente (véase Lámina 2-1, pp. 64-65). Los compuestos de car-

bono pequeños y grandes que sintetizan las células se denominan *moléculas orgánicas*. El resto de las moléculas, incluida la del agua, se denominan *inorgánicas*.

Ciertas combinaciones de átomos, como los grupos metilo ($-CH_3$), hidroxilo ($-OH$), carboxilo ($-COOH$), carbonilo ($-C{=}O$), fosforilo ($-PO_3^{2-}$) y amino ($-NH_2$), se repiten en las moléculas orgánicas. Cada **grupo químico** de este tipo tiene características físicas y químicas propias que influyen en el comportamiento de la molécula en la que se encuentran: p. ej., en la tendencia a ganar o perder protones y en las moléculas con las que puede interactuar. Familiarizarse con estos grupos y sus propiedades químicas simplifica mucho la visión de la química de la vida. En la lámina 2-1, se resumen los grupos químicos más comunes y algunas de sus propiedades.

Las células contienen cuatro familias principales de pequeñas moléculas orgánicas

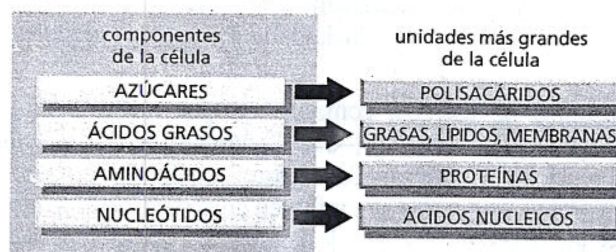
Las pequeñas moléculas orgánicas de la célula son compuestos de carbono con un peso molecular de 100 a 1.000, que contienen hasta alrededor de 30 átomos de carbono. Por lo general, se las encuentra en estado libre disueltas en el citoplasma y tienen destinos diferentes. Algunas son utilizadas como subunidades *–monómeros–* y construyen las *macromoléculas* poliméricas gigantes de la célula: proteínas, ácidos nucleicos y grandes polisacáridos. Otras son fuente de energía y se descomponen y transforman en otras moléculas pequeñas en un laberinto de vías metabólicas intracelulares. Muchas moléculas pequeñas cumplen más de una función en la célula y actúan, por ejemplo, como subunidades potenciales de macromoléculas y como fuentes de energía. Es crucial reconocer que, en los organismos vivos, las pequeñas moléculas orgánicas son mucho más escasas que las macromoléculas orgánicas, dado que constituyen sólo alrededor de la décima parte de la masa total de materia orgánica de una célula (Cuadro 2-2). Aproximadamente, hay unos mil tipos diferentes de estas moléculas pequeñas en una célula típica.

Todas las moléculas orgánicas se sintetizan a partir del mismo conjunto de compuestos simples y se degradan en ellos. Tanto la síntesis como la degradación se producen a través de secuencias de cambios químicos simples de variedad limitada y que cumplen reglas definidas en cada paso. En consecuencia, los compuestos de una célula se relacionan químicamente, y la mayoría de ellos se pueden clasificar en una pequeña cantidad de familias distintas. En términos generales, las células contienen cuatro familias importantes de moléculas orgánicas pequeñas: *azúcares*, *ácidos grasos*, *aminoácidos* y *nucleótidos* (Fig. 2-15). Si bien muchos de los compuestos presentes en las células no corresponden a ninguna de estas categorías, estas cuatro familias de moléculas orgánicas pequeñas, junto con las macromoléculas que se forman cuando se unen entre sí formando grandes cadenas, constituyen una gran parte de la masa de la célula (véase cuadro 2-2).

CUADRO 2-2. COMPOSICIÓN QUÍMICA APROXIMADA DE UNA CÉLULA BACTERIANA

	PORCENTAJE DEL PESO TOTAL DE LA CÉLULA	NÚMERO DE TIPOS DE CADA MOLÉCULA
Agua	70	1
Iones inorgánicos	1	20
Azúcares y precursores	1	250
Aminoácidos y precursores	0,4	100
Nucleótidos y precursores	0,4	100
Ácidos grasos y precursores	1	50
Otras moléculas pequeñas	0,2	~ 300
Macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos)	26	~ 3.000

Figura 2-15. Los azúcares, los ácidos grasos, los aminoácidos y los nucleótidos son las cuatro familias principales de pequeñas moléculas orgánicas de las células. Forman los componentes monoméricos, o subunidades, de la mayoría de las macromoléculas y otros compuestos celulares. Algunas de estas moléculas, como los azúcares y los ácidos grasos, también son fuentes de energía.



Los azúcares son fuentes de energía para las células y las subunidades de los polisacáridos

La fórmula general de los azúcares más simples –los *monosacáridos*– es $(CH_2O)_n$, donde *n* suele ser 3, 4, 5 o 6. Los azúcares y las moléculas formadas a partir de ellos, también se denominan hidratos de carbono por esta fórmula simple. La fórmula de la glucosa, por ejemplo, es $C_6H_{12}O_6$ (**Fig. 2-16**). Sin embargo, la fórmula no define por completo a la molécula: el mismo conjunto de átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno se puede unir por enlaces covalentes de distintas maneras y crear estructuras de diversas formas. La glucosa, por ejemplo, se puede convertir en un azúcar diferente –manosa o galactosa– cambiando sólo las orientaciones de grupos OH específicos respecto del resto de la molécula (**Lámina 2-3**, pp. 68-69). Además, cada uno de estos azúcares puede existir en una de dos formas, denominadas forma D o forma L, que son imágenes especulares una de la otra. Las moléculas que tienen la misma fórmula química pero distinta estructura se denominan *isómeros*, y los pares de moléculas que son imágenes especulares se denominan *isómeros ópticos*. Los isómeros son comunes entre las moléculas orgánicas en general y cumplen un papel importante en generar la enorme variedad de azúcares. En la lámina 2-3, se presenta un resumen más completo de las estructuras y la química de los azúcares.

Los monosacáridos se pueden unir por enlaces covalentes –denominados enlaces glucosídicos– y formar hidratos de carbono más grandes. Dos monosacáridos unidos forman un disacárido, como la sacarosa, que está compuesta por la unión de una glucosa y una fructosa. Los azúcares poliméricos más grandes abarcan desde los *oligosacáridos* (trisacáridos, tetrasacáridos, etc.) hasta *polisacáridos* gigantes, que pueden contener miles de unidades de monosacáridos. En la mayor parte de los casos, el prefijo "oligo" se utiliza para referirse a las macromoléculas compuestas por un pequeño número de monómeros, entre 3 y 50. Los polímeros, en cambio, pueden contener cientos o miles de subunidades.

El modo en que se enlazan los azúcares ilustra algunas características comunes de la formación de los enlaces bioquímicos. Se forma un enlace entre un grupo –OH de un azúcar y un grupo –OH de otro azúcar mediante una **reacción de con-**

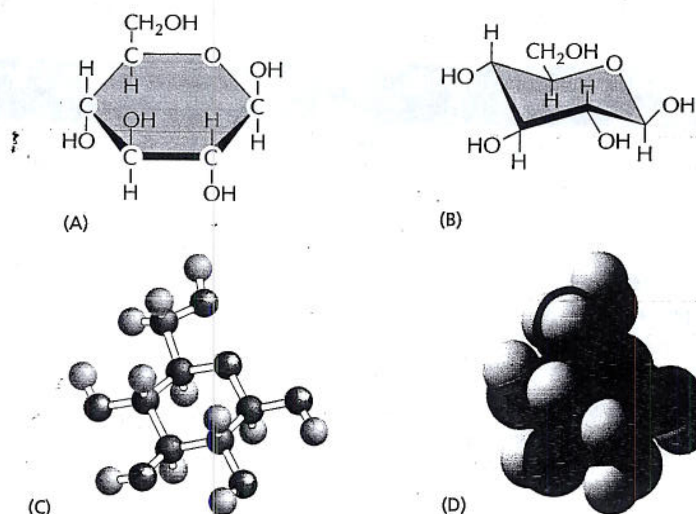


Figura 2-16. La estructura de la glucosa, un azúcar simple, se puede representar de diversas maneras. En las fórmulas estructurales representadas en (A), los átomos se indican como símbolos químicos unidos entre sí por líneas continuas, que representan enlaces covalentes. Las líneas gruesas se utilizan para indicar el plano del anillo glucídico y mostrar que los grupos –H y –OH no están en ese plano. (B) Otro tipo de fórmula estructural que muestra la estructura tridimensional de la glucosa en la denominada "configuración en silla". (C) Modelo de bolas y varillas en el cual se indica la disposición tridimensional de los átomos en el espacio. (D) Modelo espacial que ilustra la disposición tridimensional de los átomos y, además, da cierta idea de sus tamaños relativos y del contorno superficial de la molécula. En (C) y (D) los átomos se representan con los siguientes colores: C, *negro*; H, *blanco*; O, *rojo*. Éste es la codificación de color convencional de estos átomos (véase Fig. 2-10), que se utilizará en todo este libro (Película 2.1).

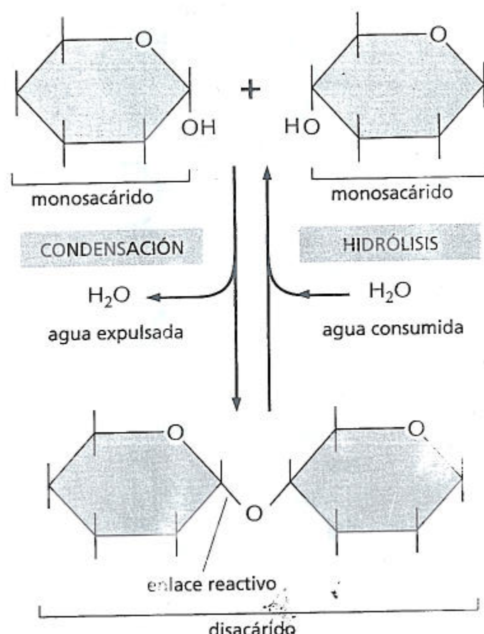


Figura 2-17. La unión de dos monosacáridos forma un disacárido. Esta reacción pertenece a una categoría general de reacciones denominadas *reacciones de condensación*, en las que se unen dos moléculas, con pérdida de una molécula de agua. La reacción inversa (en la que se agrega una molécula de agua) se denomina *hidrólisis*.

densación, en la que se expulsa una molécula de agua cuando se forma el enlace (Fig. 2-17). En otros polímeros biológicos, como los ácidos nucleicos y las proteínas, las subunidades también se unen mediante reacciones de condensación en las que se expulsa una molécula de agua. Los enlaces formados mediante estas reacciones de condensación se pueden romper por medio del proceso inverso de **hidrólisis**, que consume una molécula de agua (véase Fig. 2-17).

Como cada monosacárido tiene varios grupos hidroxilo libres que se pueden unir a otro monosacárido (o a algún otro compuesto), los polímeros de azúcares pueden ser ramificados, y la cantidad de posibles estructuras de polisacáridos es sumamente grande. Por ese motivo, es mucho más difícil determinar la disposición de los azúcares en un polisacárido que determinar la secuencia de nucleótidos de una molécula de DNA, en la que cada unidad se une a la siguiente exactamente de la misma manera.

El monosacárido *glucosa* desempeña un papel central como fuente de energía para las células. Como se explicará en el capítulo 13, se descompone en moléculas más pequeñas a través de una serie de reacciones que liberan energía que la célula puede aprovechar para realizar trabajo útil. Como depósitos de glucosa de largo plazo, las células utilizan polisacáridos simples compuestos sólo por unidades de glucosa –principalmente, *glucógeno* en los animales y *almidón* en las plantas– que se mantienen como reserva para la producción de energía.

PREGUNTA 2-6

Observe detenidamente las representaciones espaciales de la molécula de glucosa mostrada en la figura 2-16D. Advierta que hay átomos de hidrógeno de dos tamaños diferentes. ¿Debemos disculparnos porque el dibujante cometió un error? Explique su respuesta.

Los azúcares no tienen como única función producir y almacenar energía. También se los utiliza, por ejemplo, como sostén mecánico. La molécula orgánica más abundante en la Tierra –la *celulosa* que forma las paredes de las células vegetales– es un polisacárido de la glucosa. Otra sustancia orgánica muy abundante, la quitina del exoesqueleto de los insectos y de las paredes de los hongos, también es un polisacárido: en este caso, un polímero lineal de un derivado glucídico denominado *N*-acetilglucosamina (véase Lámina 2-3, pp. 68-69). Otros polisacáridos, que tienen tendencia a ser resbaladizos cuando se humedecen, son los componentes principales de las membranas mucosas y de los cartílagos.

Los oligosacáridos más pequeños se pueden unir mediante enlaces covalentes a las proteínas y formar glucoproteínas o a los lípidos y formar glucolípidos (Lámina 2-4, pp. 70-71), ambos presentes en las membranas celulares. La superficie de la mayor parte de las células está tapizada con polímeros de azúcar que pertenecen a glucoproteínas y glucolípidos de la membrana plasmática. Otras células tienen la capacidad para reconocer en forma selectiva a estas cadenas laterales de azúcares. Las diferencias en el tipo de azúcar presente en la superficie celular es la base molecular de los distintos grupos sanguíneos del ser humano.

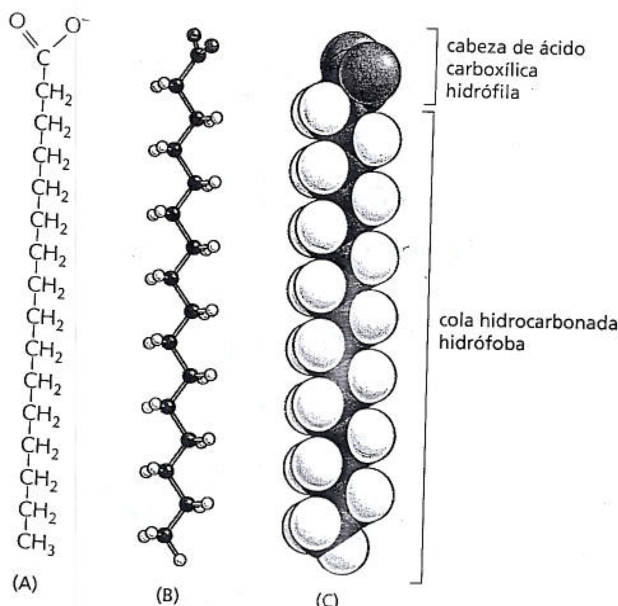


Figura 2-18. Los ácidos grasos están formados por componentes hidrófobos e hidrófilos. La cadena hidrocarbonada hidrófoba está unida a un grupo ácido carboxílico hidrófilo. Aquí se muestra el ácido palmítico. Los distintos ácidos grasos tienen colas hidrocarbonadas diferentes. (A) Fórmula estructural. El grupo ácido carboxílico de la cabeza se representa en su forma ionizada. (B) Modelo de bolas y varillas. (C) Modelo espacial (Película 2.2).

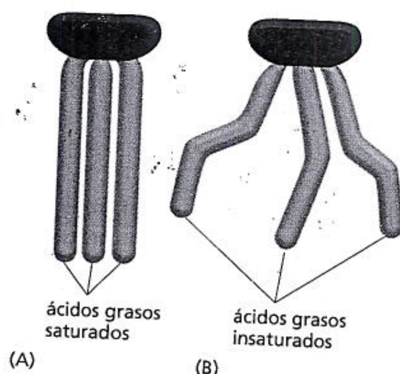


Figura 2-19. Las propiedades de las grasas dependen de las cadenas laterales de ácidos grasos que presentan. Los ácidos grasos se almacenan en el citoplasma de muchas células en forma de pequeñas gotas de triacilglicerol, compuesto por tres cadenas de ácidos grasos unidas a una molécula de glicerol. (A) Las grasas saturadas, como el triestearato, se encuentran en la carne y en los productos lácteos. La falta de enlaces dobles en las cadenas de ácidos grasos permite que estas moléculas se compacten, eso explica por qué la manteca y la grasa de cerdo son sólidas a temperatura ambiente. (B) Los aceites vegetales, como el aceite de maíz, contienen ácidos grasos no saturados, que pueden ser monoinsaturados (contienen un solo enlace doble) o poliinsaturados (contienen múltiples enlaces dobles). Los enlaces dobles producen incurvaciones en las cadenas de ácidos grasos que impiden que las grasas se compacten; por este motivo, los aceites vegetales son líquidos a temperatura ambiente. Si bien las grasas son esenciales en la dieta, las grasas saturadas aumentan la concentración de colesterol de la sangre y pueden producir acumulación de grasa en las arterias, lo que a su vez puede causar una cardiopatía. Por este motivo, los fabricantes eliminaron grasas saturadas de los alimentos envasados.

Los ácidos grasos son componentes de las membranas celulares

Una molécula de **ácido graso**, como el *ácido palmítico* (Fig. 2-18), tiene dos regiones químicas diferenciadas. Una de ellas es una larga cadena de hidrocarburos, hidrófoba y poco reactiva químicamente. La otra es un grupo carboxilo (–COOH), que se comporta como un ácido (ácido carboxílico): se ioniza en solución (–COO⁻), es muy hidrófilo y químicamente reactivo. Casi todas las moléculas de ácido graso de una célula están unidas por enlaces covalentes a otras moléculas a través de su grupo ácido carboxílico (véase Lámina 2-4, pp. 70-71). Las moléculas como los ácidos grasos, que poseen regiones hidrófilas e hidrófobas, se denominan *anfipáticas*.

La cola hidrocarbonada del ácido palmítico está saturada: no posee enlaces dobles entre sus átomos de carbono y contiene el número máximo posible de átomos de hidrógeno. El ácido esteárico, otro de los ácidos grasos comunes en la grasa animal, también está saturado. Otros ácidos grasos, como el ácido oleico, tienen colas *insaturadas*, con uno o más enlaces dobles en su cadena. Los enlaces dobles se enroscan en las moléculas e interfieren en su capacidad para "empaquetarse" en una masa sólida; la diferencia entre la margarina sólida (saturada) y blanda (poliinsaturada) depende de la ausencia o la presencia de estos enlaces dobles. La fluidez de la membrana dependerá de la estrechez con que estén unidos los ácidos grasos de la membrana celular. Los diferentes ácidos grasos presentes en las células difieren entre sí sólo en la longitud de sus cadenas hidrocarbonadas, y en el número y la ubicación de los enlaces dobles carbono-carbono (véase Lámina 2-4).

Los ácidos grasos sirven como reserva concentrada de alimento en las células porque pueden degradarse y producir una cantidad de energía utilizable alrededor de seis veces mayor que la producida por la degradación de la glucosa para el mismo peso. Los ácidos grasos se almacenan en el citoplasma de muchas células en forma de gotitas de moléculas de *triacilglicerol*, compuestos formados por tres cadenas de ácidos grasos unidas a una molécula de glicerol (véase Lámina 2-4). Estas moléculas constituyen la grasa animal que se encuentra en la carne, la mantequilla y la crema, y los aceites vegetales como el aceite de maíz y el aceite de oliva (Fig. 2-19). Cuando una célula necesita energía, las cadenas de ácidos grasos se liberan de los triacilgliceroles y se descomponen en unidades de dos carbonos. Estas unidades de dos carbonos son idénticas a las que se obtienen por degradación de la glucosa y participan en las mismas vías de reacciones metabólicas productoras de energía, como se describirá en el capítulo 13.

Los ácidos grasos y sus derivados, entre los que figuran los triacilgliceroles, son ejemplos de *lípidos*. Este tipo de moléculas biológicas conforman un grupo poco

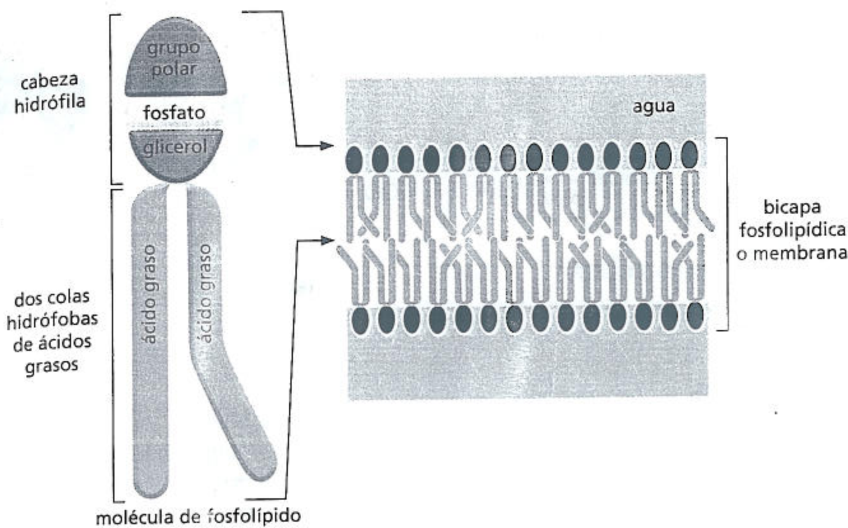


Figura 2-20. Los fosfolípidos se agregan y forman membranas celulares. Los fosfolípidos están compuestos por dos colas hidrófobas de ácidos grasos unidas a una cabeza hidrófila. En un medio acuoso, las colas hidrófobas de los fosfolípidos se compactan y excluyen al agua y, así, forman una bicapa con las cabezas hidrófilas de las moléculas de fosfolípido orientadas hacia el medio acuoso.

definido con la característica común de ser insolubles en agua y solubles en grasas y solventes orgánicos como el benceno. Por lo general, los lípidos contienen largas cadenas hidrocarbonadas, como en el caso de los ácidos grasos y los *isoprenos*, o varios anillos aromáticos unidos entre sí, como en los *esteroides* (véase Lámina 2-4, pp. 70-71).

La función más importante de los ácidos grasos de las células es la formación de membranas. Estas delgadas láminas delimitan a todas las células y rodean sus orgánulos internos. Están compuestas sobre todo por *fosfolípidos*, pequeñas moléculas que, como los triacilgliceroles, están formadas principalmente por ácidos grasos y glicerol. Sin embargo, en los fosfolípidos, el glicerol no está unido a tres cadenas de ácidos grasos como en los triacilgliceroles, sino sólo a dos. El "tercer" sitio de la molécula de glicerol está unido a un grupo fosfato hidrófilo, que a su vez está unido a un pequeño compuesto hidrófilo como la colina (véase Lámina 2-4). Los fosfolípidos son muy anfipáticos: cada molécula de fosfolípido tiene una cola hidrófoba, compuesta por dos cadenas de ácidos grasos, y una cabeza hidrófila, donde se localiza el fosfato. Esto les confiere propiedades físicas y químicas que los diferencian de los triacilgliceroles, que son predominantemente hidrófobos. Otros lípidos presentes en la membrana celular contienen uno o más azúcares en lugar de un grupo fosfato. Como se verá en el capítulo 16, varios de estos *glucolípidos* cumplen una importante función en la señalización intracelular.

La capacidad para formar membranas que tienen los fosfolípidos se debe a su naturaleza anfipática. Los fosfolípidos se extienden sobre la superficie del agua y formar una monocapa de moléculas fosfolipídicas con sus colas hidrófobas orientadas hacia el interior y sus cabezas hidrófilas en contacto con el agua. En el agua, dos de estas capas moleculares se pueden combinar fácilmente con las colas enfrentadas entre sí y formar una *bicapa lipídica*, que es la base estructural de todas las membranas celulares (Fig. 2-20; analizado con más detalle en el capítulo 11).

Los aminoácidos son las subunidades de las proteínas

Los **aminoácidos** son un grupo heterogéneo de moléculas con una propiedad característica: todos tienen un grupo ácido carboxilo y un grupo amino, ambos unidos al mismo átomo de carbono llamado carbono α (Fig. 2-21). Se diferencian químicamente entre sí por su cadena lateral, que también está unida al carbono α. Las células utilizan los aminoácidos para fabricar **proteínas**, que son polímeros de aminoácidos unidos cabeza con cola en una larga cadena que luego se pliega en una estructura tridimensional única de cada tipo de proteína.

La unión covalente entre dos aminoácidos adyacentes en una cadena de proteínas se denomina *enlace peptídico*; la cadena de aminoácidos también se conoce como polipéptido (Fig. 2-22). Los enlaces peptídicos se forman por reacciones de

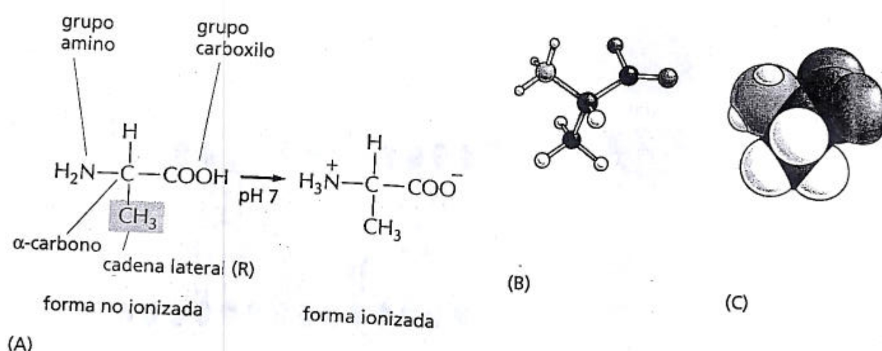


Figura 2-21. La alanina es uno de los aminoácidos más simples. (A) En la célula, que tiene un pH cercano a 7,0, el aminoácido libre se encuentra en su forma ionizada; pero al ser incorporado a una cadena polipeptídica, desaparecen las cargas de los grupos amino y carboxilo. (B) Modelo de bolas y varillas. (C) Modelo espacial de la alanina (C, *negro*; H, *blanco*; O, *rojo*; N, *azul*).

PREGUNTA 2-7

¿Por qué supone usted que sólo participan L-aminoácidos y no una mezcla aleatoria de las formas L- y D de cada aminoácido **en la fabricación de** proteínas?

condensación en las que un aminoácido se une al siguiente. Independientemente de los aminoácidos específicos que lo componen, un polipéptido siempre tiene un grupo amino (NH_2) en un extremo (su extremo *N-terminal*) y un grupo carboxilo (COOH) en el otro (su extremo *C-terminal*). Esto le da a la proteína o al polipéptido una direccionalidad definida: una polaridad estructural (en contraposición con la polaridad eléctrica).

En las proteínas, se suelen hallar veinte tipos de aminoácidos, cada uno de ellos con una cadena lateral diferente unida al átomo de carbono α (Lámina 2-5, pp. 72-73). Los mismos 20 aminoácidos se repiten en todas las proteínas, sea que pertenezcan a bacterias, a vegetales o a animales. La forma en que ha sido seleccionado este grupo preciso de 20 aminoácidos es uno de los misterios de la evolución de la vida; no hay ninguna razón química obvia que explique por qué otros aminoácidos no habrían podido desempeñar la misma función. Pero una vez establecida la selección, no pudo ser modificada. Cambiar los tipos de aminoácidos utilizados por las células exigiría que todos los seres vivos reinstrumentaran todo su metabolismo y lo adaptaran a los nuevos componentes.

Al igual que los azúcares, todos los aminoácidos (excepto la glicina) existen como isómeros ópticos en las formas D y L (véase Lámina 2-5). Sin embargo, sólo las formas L se encuentran en las proteínas (aunque en las paredes celulares de algunas bacterias y en algunos antibióticos se encuentran D-aminoácidos). El origen del uso exclusivo de los L-aminoácidos para la construcción de las proteínas es otro misterio de la evolución.

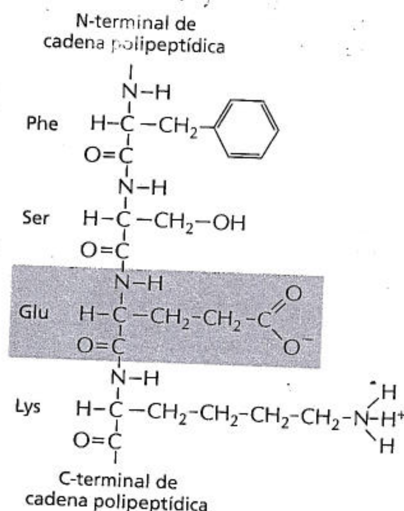


Figura 2-22. Las proteínas se mantienen unidas por enlaces peptídicos. Los cuatro aminoácidos aquí mostrados están unidos por tres enlaces peptídicos, uno de los cuales está resaltado en *amarillo*. Uno de los aminoácidos está sombreado en *gris*. Las cadenas laterales de los aminoácidos se muestran en *rojo*. Los dos extremos de una cadena polipeptídica son distintos desde el punto de vista químico. Un extremo, el N-terminal, posee un grupo amino, y el otro, el C-terminal, posee un grupo carboxilo. La secuencia de aminoácidos de una proteína o de un polipéptido se abrevia con un código de tres letras o con un código de una letra y siempre se lee a partir del N-terminal (véase lámina 2-5, pp. 72-73). En el ejemplo dado, la secuencia es Phe-Ser-Glu-Lys (o FSEK).

La versatilidad química que confieren los 20 aminoácidos estándares tiene una importancia vital para la función de las proteínas. Cinco de los 20 aminoácidos poseen cadenas laterales que pueden formar iones en solución y, por ende, pueden tener carga eléctrica (p. ej., la lisina y el ácido glutámico que se muestran en la figura 2-22). Los demás aminoácidos no poseen carga. Algunos aminoácidos son polares e hidrófilos, mientras que otros son no polares e hidrófobos (véase Lámina 2-5). Como se analizará en el capítulo 4, las propiedades colectivas de las cadenas laterales de los aminoácidos constituyen la base de las diversas y sofisticadas funciones de las proteínas.

Los nucleótidos son las subunidades del DNA y del RNA

Un *nucleósido* es una molécula formada por un compuesto cíclico nitrogenado unido a un azúcar de cinco carbonos, que puede ser ribosa o desoxirribosa (Lámina 2-6, pp. 74-75). Un nucleósido que tiene uno o más grupos fosfato unidos a su molécula de azúcar se denomina **nucleótido**. Los nucleótidos que contienen ribosa se llaman *ribonucleótidos*, y los que contienen desoxirribosa, *desoxirribonucleótidos*.

Por lo general, los anillos que contienen nitrógeno se denominan *bases* por razones históricas: en condiciones ácidas, cada uno se puede unir a un H+ (protón) y así aumentar la concentración de iones OH- de una solución acuosa. Hay una gran semejanza entre las distintas bases nucleotídicas. La *citosina* (C), la *timina* (T) y el *uracilo* (U) se denominan *pirimidinas* porque derivan de un anillo pirimidínico

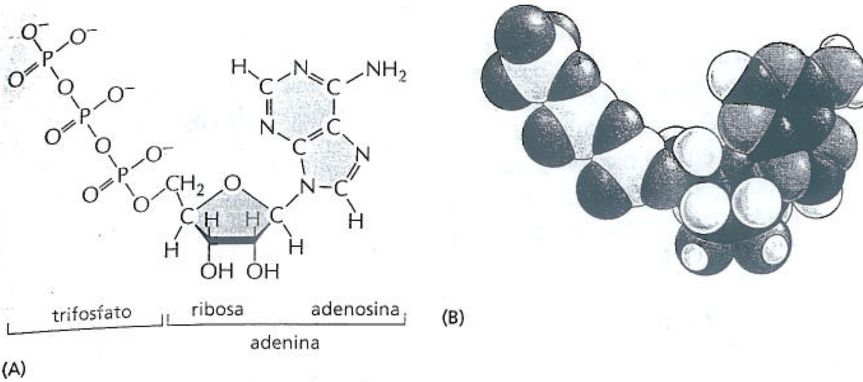


Figura 2-23. La adenosina trifosfato (ATP) es un nucleótido cuya reactividad reside en sus grupos fosfato terminales. (A) Fórmula estructural. Los tres grupos fosfato están sombreados en *amarillo*. (B) Modelo espacial (Película 2.3). En (B) los átomos tienen los siguientes colores: C, *negro*; H, *blanco*; N, *azul*; O, *rojo*; P, *verde*. La versión desoxirribonucleótido de la adenosina trifosfato (dATP) difiere sólo en que un átomo de hidrógeno reemplaza al grupo hidroxilo (*rojo*) en (A).

de seis átomos; la *guanina* (G) y la *adenina* (A) son *purinas* que contienen un segundo anillo de cinco átomos fusionado con el anillo de seis átomos. Cada nucleótido recibe el nombre de la base que contiene (véase Lámina 2-6, pp. 74-75).

Los nucleótidos pueden actuar como transportadores de energía química a corto plazo. El principal es el ribonucleótido **adenosina 5'-trifosfato** o ATP (Fig. 2-23), que participa en la transferencia de energía en cientos de reacciones celulares. El ATP se forma a través de reacciones impulsadas por la energía liberada por la degradación de los alimentos. Sus tres fosfatos están unidos en serie mediante dos *enlaces fosfoanhídridos* (véase Lámina 2-6). La rotura de estos enlaces fosfato libera gran cantidad de energía útil. El grupo fosfato terminal, en particular, se separa de la molécula por hidrólisis (Fig. 2-24). En muchas situaciones, la transferencia de este fosfato a otras moléculas libera energía que se utiliza en reacciones de biosíntesis que requieren energía. Otros derivados de los nucleótidos actúan como transportadores para la transferencia de otros grupos químicos. Todo esto se analizará en el capítulo 3.

La función principal de los nucleótidos de la célula es almacenar y recuperar información biológica. Los nucleótidos son los componentes fundamentales de los *ácidos nucleicos*, largos polímeros en los que las subunidades de nucleótidos se unen en forma covalente mediante un *enlace fosfodiéster* entre el grupo fosfato unido al azúcar de un nucleótido y el grupo hidroxilo del azúcar del nucleótido siguiente (Fig. 2-25). Las cadenas de ácidos nucleicos se sintetizan a partir de nucleósidos trifosfato ricos en energía mediante una reacción de condensación que libera pirofosfato inorgánico durante la formación del enlace fosfodiéster (véase Lámina 2-6, pp. 74-75).

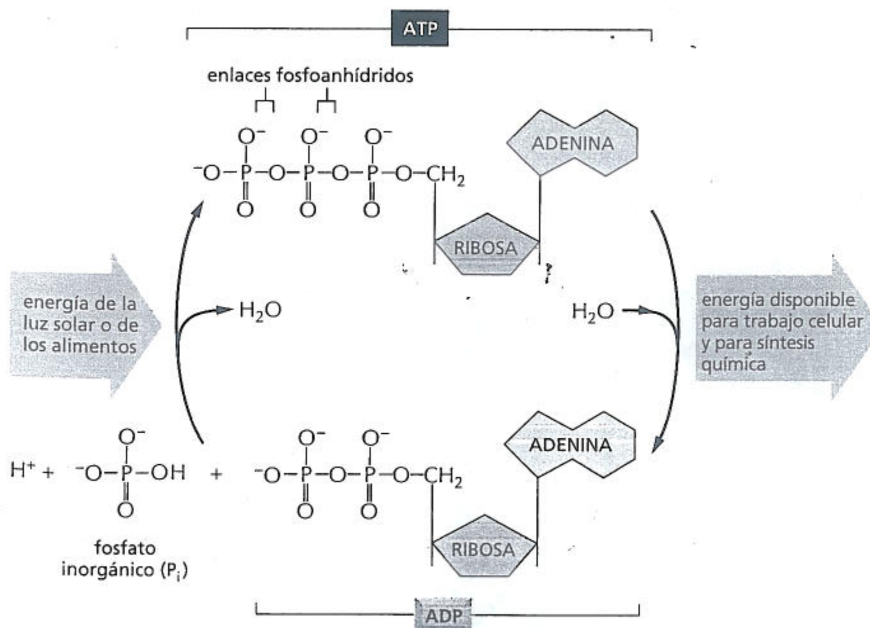


Figura 2-24. El ATP actúa como transportador de energía en las células. La formación de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, que requiere energía, se acopla con las reacciones productoras de energía de oxidación de los alimentos (en las células animales, los hongos y algunas bacterias) o con la captura de la luz (en las células vegetales y en algunas bacterias). A su vez, la hidrólisis de ATP a ADP y fosfato inorgánico proporciona la energía necesaria para la realización de muchas reacciones celulares. Juntas, estas reacciones forman el ciclo del ATP.

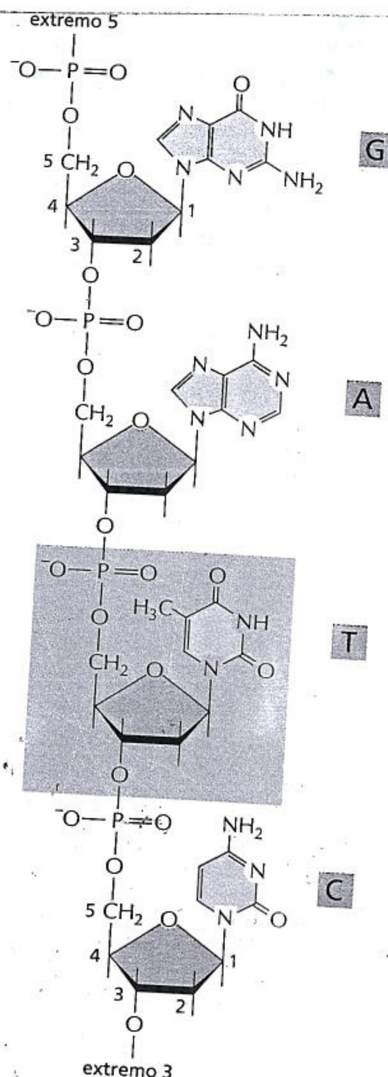


Figura 2-25. Pequeño fragmento de una cadena de una molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) que muestra los enlaces entre cuatro residuos de nucleótidos consecutivos. Los nucleótidos están unidos por un enlace fosfodiéster entre átomos de carbono específicos del anillo de azúcar, conocidos como átomos 5' y 3'. Por esta razón, un extremo de la cadena polinucleotídica, el extremo 5', tendrá un grupo fosfato libre, y el otro, el extremo 3', un grupo hidroxilo libre. Uno de los nucleótidos está sombreado de *gris*; uno de los enlaces fosfodiéster formado por un grupo fosfato de un nucleótido que se une al nucleótido adyacente está resaltado en *amarillo*. Por lo general, la secuencia lineal de nucleótidos de una cadena polinucleotídica se abrevia por medio de un código de una letra y se lee siempre a partir del extremo 5'. En el ejemplo ilustrado, la secuencia es G-A-T-C.

Hay dos tipos principales de ácidos nucleicos que se diferencian entre sí por el tipo de azúcar que utilizan en su esqueleto azúcar-fosfato. Los que están compuestos por el azúcar ribosa se conocen como **ácidos ribonucleicos**, o **RNA**, y contienen las bases A, G, C y U. Los que están compuestos por desoxirribosa (en la que el grupo hidroxilo en la posición 2' del anillo de carbonos de la ribosa es reemplazado por un hidrógeno; véase Lámina 2- 6) se conocen como **ácidos desoxirribonucleicos** o **DNA** y contienen las bases A, G, C y T (la T es similar desde el punto de vista químico al U del RNA) (véase Fig. 2-25). Por lo general, el RNA se encuentra en las células como una cadena simple de polinucleótidos, pero el DNA casi siempre se encuentra en la forma de una molécula de doble cadena: la doble hélice de DNA compuesta por dos cadenas de polinucleótidos antiparalelas entre sí, unidas por enlaces de hidrógeno entre sus bases (Lámina 2-7, pp. 76-77).

La secuencia lineal de nucleótidos de una molécula de DNA o de RNA codifica información genética. Sin embargo, los dos ácidos nucleicos cumplen funciones algo distintas en la célula. El DNA, con sus hélices más estables unidas por enlaces de hidrógeno, actúa como depositario de la información hereditaria a largo plazo, mientras que el RNA de cadena simple suele ser un transportador más transitorio de instrucciones moleculares. La capacidad de las bases de las distintas moléculas de ácido nucleico para reconocerse y aparearse entre sí por medio de enlaces de hidrógeno (lo que se denomina *apareamiento de bases*) –G con C y A con T o U– es el fundamento de la herencia y de la evolución, como se explica en el capítulo 5.

LAS MACROMOLÉCULAS DE LAS CÉLULAS

En función del peso, las macromoléculas son, sin duda, las moléculas carbonadas más abundantes de una célula viva (Fig. 2-26). Son los componentes principales de la célula y los que les confieren las propiedades más características a los seres vivos. Las **macromoléculas**, que tienen un tamaño y una complejidad intermedios entre las moléculas pequeñas y los orgánulos celulares, son polímeros construidos mediante enlaces covalentes entre pequeñas moléculas orgánicas (denominadas **monómeros**, o *subunidades*) que forman largas cadenas o **polímeros** (Fig. 2-27 y Biología experimental, pp. 60-61). Sin embargo, tienen muchas propiedades inesperadas que no podrían haberse previsto a partir de sus componentes simples. Por ejemplo, las moléculas de DNA y de RNA (los ácidos nucleicos) almacenan y transmiten información hereditaria.

Las proteínas son especialmente versátiles y desempeñan miles de funciones diferentes en las células. Muchas proteínas actúan como enzimas que catalizan las reacciones químicas que se llevan a cabo en la célula, como todas las reacciones por las que la célula extrae energía de las macromoléculas de los alimentos. Las enzimas también son necesarias para sintetizar las numerosas moléculas diferen-

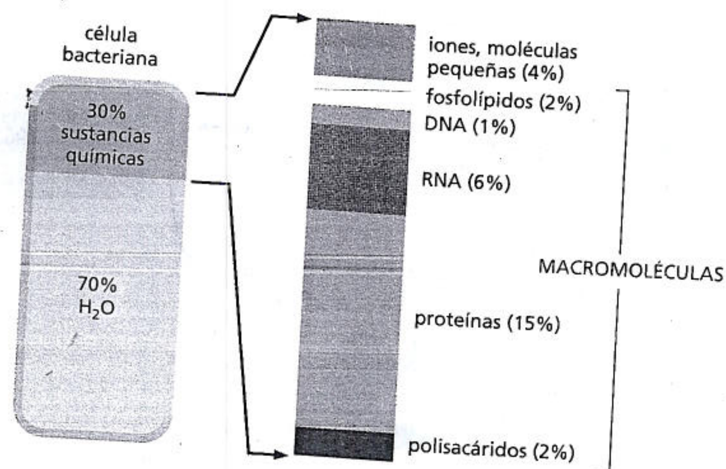


Figura 2-26. Las macromoléculas abundan en las células. Se muestra la composición aproximada de una célula bacteriana. La composición de una célula animal es similar.

tes que necesita una célula. Por ejemplo, una enzima denominada ribulosa bifosfato carboxilasa, presente en los cloroplastos, convierte el CO_2 en azúcares en los vegetales; así, esta proteína crea la mayor parte de la materia orgánica utilizada por el resto de los seres vivos. Otras proteínas se utilizan como componentes estructurales: la tubulina se autoensambla y forma los microtúbulos largos y rígidos de las células (véase Fig. 1-27B). Las histonas empaquetan el DNA celular en cromosomas. Otras proteínas actúan como motores moleculares que producen fuerza y movimiento, como en el caso de la miosina del músculo. Las proteínas también desempeñan una amplia variedad de otras funciones. Más adelante en este libro, se examinará la base molecular de muchas funciones específicas. Aquí sólo se considerarán algunos principios generales de la química macromolecular que posibilitan estas funciones.

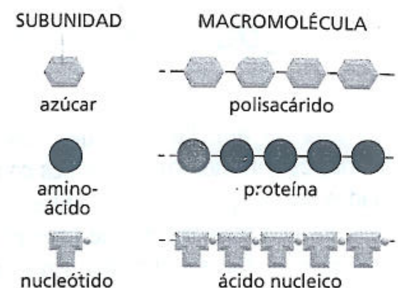


Figura 2-27. Los polisacáridos, las proteínas y los ácidos nucleicos están compuestos por subunidades monoméricas. Cada macromolécula es un polímero formado a partir de pequeñas moléculas (denominadas monómeros o subunidades) unidas entre sí por enlaces covalentes.

Las macromoléculas contienen una secuencia específica de subunidades

Si bien las reacciones químicas de adición de subunidades a cada polímero son distintas, en detalle, para las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos, comparten características importantes. Cada polímero crece por la adición de un monómero en un extremo de la cadena mediante una reacción de condensación, en la que se pierde una molécula de agua con la adición de cada subunidad (Fig. 2-28; véase también Fig. 2-17). En todos los casos, las reacciones son catalizadas por enzimas específicas que aseguran que sólo se incorporen monómeros del tipo apropiado.

La polimerización escalonada de monómeros que forman una larga cadena es una forma simple de sintetizar una gran molécula compleja, porque la adición de las subunidades tiene lugar por medio de la misma reacción, realizada una y otra vez por el mismo grupo de enzimas. En cierto sentido, el proceso se asemeja a la operación repetitiva de una máquina en una fábrica, con algunas diferencias importantes. Primero, aparte de algunos polisacáridos, casi todas las macromoléculas se sintetizan a partir de un grupo de monómeros que difieren ligeramente entre sí, por ejemplo, los 20 aminoácidos diferentes que componen las proteínas (véase Lámina 2-5, pp. 72-73). Segundo, y más importante todavía, en la cadena polimérica, estas subunidades no se ensamblan en forma aleatoria, sino en un orden particular o **secuencia**.

PREGUNTA 2-8

¿A qué nos referimos cuando hablamos de la "polaridad" de una cadena de polipéptidos y de la "polaridad" de un enlace químico? ¿Cuál es la diferencia de significado en cada caso?

Los mecanismos que especifican la secuencia de polímeros de la célula se analizan en los capítulos 6 y 7. Estos mecanismos son centrales para la biología porque las funciones biológicas de las proteínas, los ácidos nucleicos y de muchos polisacáridos dependen en forma absoluta de la secuencia particular de subunidades de las cadenas lineales. La posibilidad de modificar la secuencia de subunidades crea una enorme diversidad de moléculas poliméricas que se pueden producir. Así, para lograr una cadena de proteínas de 200 aminoácidos de largo, hay 20^{200} combinaciones posibles (20 × 20 × 20 × 20... multiplicado 200 veces), mientras que para una molécula de DNA de 10.000 nucleótidos de largo (pequeña para los estándares del DNA), con sus cuatro nucleótidos diferentes, existen $4^{10.000}$ posibilidades distintas, un número tan grande que es difícil de imaginar. Por consiguiente, la maquinaria de polimerización debe estar sujeta a un control sensible que permita especificar con exactitud cuál es la siguiente subunidad que se debe agregar al extremo del polímero en crecimiento.

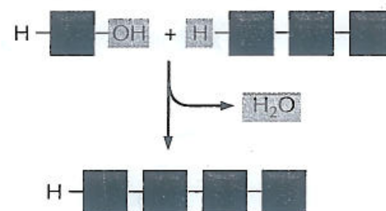


Figura 2-28. Las macromoléculas se forman por adición de subunidades a uno de sus extremos. En una reacción de condensación, se elimina una molécula de agua con la adición de cada monómero a un extremo de la cadena en formación. La reacción inversa –la descomposición de un polímero– se produce por adición de agua (hidrólisis).

Los enlaces no covalentes especifican la forma precisa de una macromolécula

La mayoría de los enlaces covalentes simples de una macromolécula permiten la rotación de los átomos que la componen, de modo que la cadena polimérica tiene gran flexibilidad. En principio, esto permite que la macromolécula adopte un número casi ilimitado de formas o **conformaciones**, dado que la cadena poliméri-

¿QUÉ SON LAS MACROMOLÉCULAS?

La idea de que las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos son moléculas grandes construidas a partir de subunidades más pequeñas unidas entre sí en cadenas moleculares largas, en la actualidad, puede parecer bastante obvia. Sin embargo, esto no fue siempre así. En la primera parte del siglo XX, pocos científicos creían en la existencia de estas macromoléculas: polímeros construidos a partir de unidades repetidas unidas por enlaces covalentes. Los químicos de esa época consideraban escandalosa la idea de que estos compuestos "terriblemente grandes" pudieran formarse a partir de componentes simples. En cambio, creían que las proteínas y otras moléculas en apariencia grandes representaban sólo agregados heterogéneos de pequeñas moléculas unidas por "fuerzas de asociación" débiles (Fig. 2-29).

El primer indicio de que las proteínas y otros polímeros eran tan grandes provino de la observación de su comportamiento en una solución. En aquella época, los científicos estaban trabajando con una variedad de proteínas e hidratos de carbono derivados de los alimentos y de sustancias naturales: la albúmina de la clara del huevo, la caseína de la leche, el colágeno de la gelatina y la celulosa de la madera. Su composición química parecía bastante simple: al igual que el resto de las moléculas orgánicas, contenían carbono, hidrógeno, oxígeno y, en el caso de las proteínas, nitrógeno. Sin embargo, su comportamiento en una solución era extraño. Por ejemplo, no podían difundir a través de un filtro fino.

Lo que no estaba claro era por qué estas moléculas se comportaban de manera diferente en una solución. ¿Eran en realidad moléculas gigantes compuestas por un número inusual de átomos unidos por enlaces covalentes? ¿O eran más similares a una suspensión coloidal de partículas; una gran mezcolanza pegajosa de moléculas más simples débilmente asociadas?

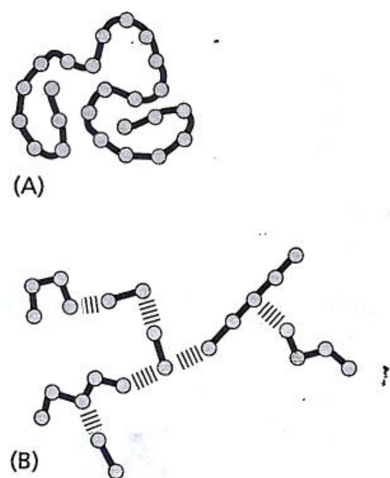


Figura 2-29. ¿Cómo podría ser una macromolécula? A comienzos del siglo XX, los químicos debatían si las proteínas, los polisacáridos y otras moléculas aparentemente grandes eran (A) partículas separadas formadas por una cantidad inusitadamente grande de átomos unidos por enlaces covalentes o (B) un agregado laxo de pequeñas moléculas heterogéneas unidas por fuerzas débiles.

Una forma de distinguir entre ambas posibilidades era determinar el tamaño real de una de estas moléculas. Si una sustancia como la albúmina sérica estaba compuesta por moléculas de tamaño uniforme, esto apoyaría la existencia de macromoléculas. Por el contrario, si la albúmina era un conglomerado de péptidos variados, se encontrarían en la solución moléculas de diversos tamaños.

Lamentablemente, las técnicas existentes a comienzos del siglo XX no eran las ideales para medir los tamaños de moléculas tan grandes. Algunos químicos estimaban el tamaño de una proteína determinando en qué medida disminuía el punto de congelamiento de una solución; otros medían la presión osmótica de las soluciones de proteínas. Estos métodos estaban sujetos a errores experimentales, y los resultados eran variables. Distintas técnicas sugerían, por ejemplo, que la masa de la celulosa era de 6.000 a 103.000 daltons (donde 1 dalton es aproximadamente igual a la masa de un átomo de hidrógeno). Estas variaciones ayudaron a alimentar la hipótesis de que las proteínas y los hidratos de carbono eran agregados sueltos y no macromoléculas.

Muchos científicos simplemente no podían creer que existieran moléculas que pesaran más que 4.000 daltons: el compuesto más grande que había sido sintetizado por los químicos orgánicos. Considérese el caso de la hemoglobina, la proteína transportadora de oxígeno de los glóbulos rojos. Para calcular su tamaño, los investigadores la descompusieron en sus componentes químicos. Además de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, la hemoglobina contiene una pequeña cantidad de hierro. Mientras trabajaban con los porcentajes, encontraron que la hemoglobina tenía un átomo de hierro por cada 712 átomos de carbono, y un peso mínimo de 16.700 daltons. ¿Podía una molécula con cientos de átomos de carbono en una cadena larga permanecer intacta en la célula y realizar funciones específicas? El químico orgánico Emil Fischer, que determinó que los aminoácidos presentes en las proteínas están unidos por enlaces peptídicos, pensaba que una cadena polipeptídica no podía contener más de 30 a 40 aminoácidos. En cuanto a la hemoglobina, con sus supuestos 700 átomos de carbono, los principales químicos consideraban que era "muy improbable" la existencia de cadenas moleculares de "longitudes verdaderamente fantásticas".

La solución definitiva de este debate debió aguardar el desarrollo de nuevas técnicas. La evidencia de que las proteínas eran macromoléculas provino de los estudios con ultracentrifugadora, un instrumento que utiliza la fuerza centrífuga para separar las moléculas de acuerdo con su tamaño (Fig. 2-30; véase también Lámina 4-3, pp. 164-165). Theodor Svedberg, que diseñó el aparato en 1925, realizó los primeros estudios. Según su razonamiento, si la proteína fuera, en realidad, un agregado de moléculas más pequeñas, el sedimento de la ultracentrifugación se vería como un extendido de moléculas de diferentes tamaños.

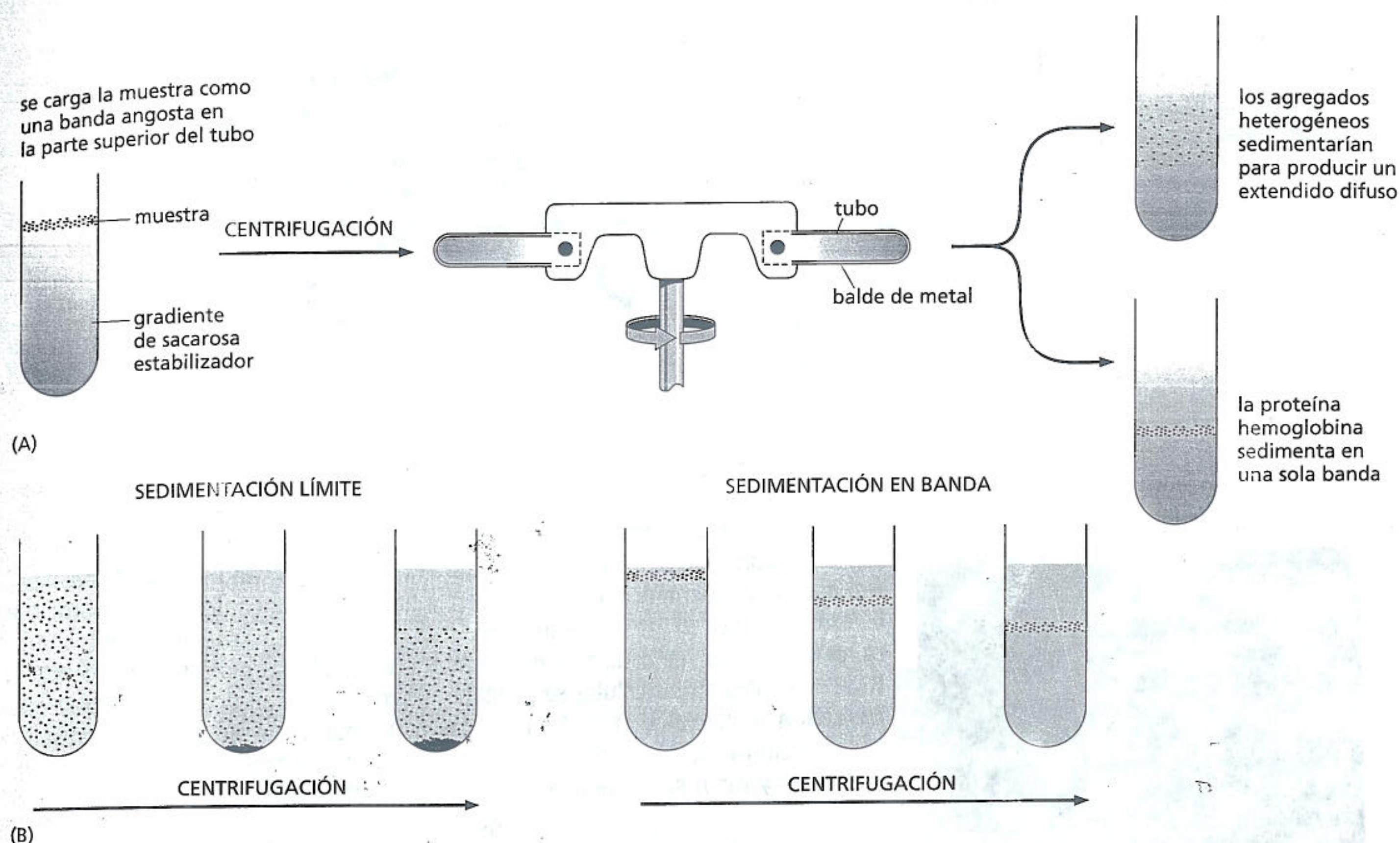


Figura 2-30. La ultracentrifugadora permitió resolver el debate acerca de las macromoléculas. En ella, se utilizan fuerzas centrífugas 500.000 veces mayores que la fuerza de la gravedad para separar proteínas u otras grandes moléculas. (A) En una ultracentrifugadora moderna, se pueden cargar muestras en una delgada capa sobre un gradiente de una solución de sacarosa formada en un tubo de ensayo. El tubo se puede colocar en un rotor metálico que gira a alta velocidad en la ultracentrifugadora. Las moléculas de distintos tamaños sedimentan a velocidades diferentes, y por ende, estas moléculas se moverán como bandas diferenciadas en lel tubo de ensayo. Si la hemoglobina fuera un agregado laxo de péptidos heterogéneos, se vería un amplio extendido de tamaños después de la centrifugación (tubo *superior*). En cambio, se la ve como una banda definida cuyo peso molecular es de 68.000 daltons (tubo *inferior*). En la actualidad, la ultracentrifugadora es un elemento estándar trivial en casi todos los laboratorios bioquímicos, pero su invento representó un enorme desafío tecnológico. El rotor centrífugo debe ser capaz de girar a velocidades altas durante muchas horas a temperatura constante y con gran estabilidad; de lo contrario, se produce convección en la solución que sedimenta, lo que arruina el experimento. En 1926, Svedberg ganó el Premio Nobel de Química por su diseño de la ultracentrifugadora y su aplicación a la química. (B) En su experimento, Svedberg llenó un tubo especial de la centrifugadora con una solución homogénea de hemoglobina; al iluminar el tubo, podía controlar de manera cuidadosa el límite móvil entre las moléculas de proteínas que sedimentaban y la solución acuosa clara que quedaba (la así llamada sedimentación límite). El método que se muestra en (A), más reciente, es una forma de "sedimentación en banda".

Svedberg utilizó la hemoglobina como proteína de prueba y descubrió que la muestra de la centrifugación presentaba una única banda cuyo peso molecular era 68.000 daltons. Sus resultados avalaron con firmeza la teoría de que las proteínas son verdaderas macromoléculas.

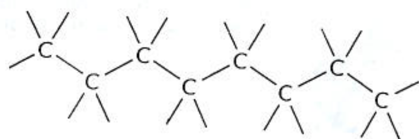
Durante la década de 1930 se acumuló más evidencia. En esa época, otros investigadores comenzaron a preparar cristales de proteína pura que podían ser estudiarlos por difracción de rayos X. Como se verá en el capítulo 4, solo las moléculas de tamaño y forma uniformes pueden formar cristales muy ordenados y producir la difracción de los rayos X de una manera que permite determinar su estructura tridimensional. Una suspensión heterogénea no se podría estudiar de esta manera.

En la actualidad, damos por hecho que muchas de las actividades más importantes de las células vivas son realizadas por macromoléculas. En cambio, en el pasado los químicos consideraban la existencia de estos polímeros con el mismo escepticismo que mostraría hoy en un zoólogo si le dijeran que, en algún lugar de África, viven elefantes de 100 metros de largo y 20 metros de alto. A los investigadores les llevó décadas dominar las técnicas necesarias para convencer a todos de que la piedra angular de la biología eran moléculas 10 veces más grandes que las que se conocían hasta entonces. Como se verá a lo largo de este libro, es común que los descubrimientos atraviesen un camino tan arduo, y el progreso de la ciencia a menudo se produce gracias a los avances de la tecnología.

LÁMINA 2-1 Enlaces y grupos químicos

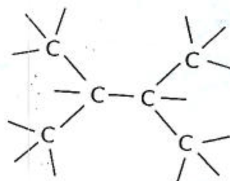
ESQUELETOS DE CARBONO

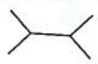
El carbono desempeña un único papel en la célula, debido a su capacidad para formar enlaces covalentes fuertes con otros átomos de carbono. Así, los átomos de carbono pueden unirse y formar cadenas



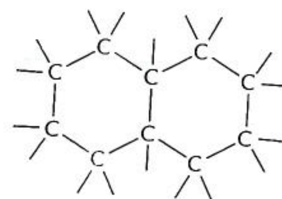
también representado como 

o cadenas ramificadas



también representado como 

o anillos



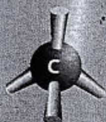
también representado como 

ENLACES COVALENTES

Un enlace covalente se forma cuando dos átomos se acercan mucho y comparten uno o más de sus electrones.

Cada átomo forma una cantidad fija de enlaces covalentes con una disposición espacial definida.

ENLACES SIMPLES: se comparten dos electrones por enlace.







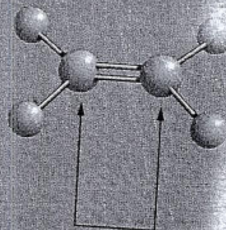
ENLACES DOBLES: se comparten cuatro electrones por enlace.







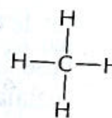
La disposición espacial precisa de los enlaces covalentes influyen en la estructura tridimensional –y la química– de las moléculas. En esta lámina de revisión, se observa cómo se utilizan los enlaces covalentes en una variedad de moléculas biológicas.



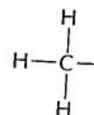
Los átomos unidos por dos o más enlaces covalentes no pueden rotar libremente alrededor del eje del enlace. Esta restricción ejerce una influencia importante sobre la forma tridimensional de muchas macromoléculas.

COMPUESTOS C-H

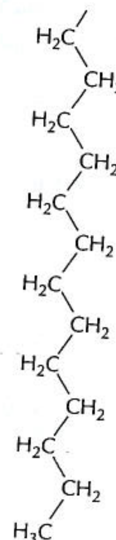
El carbono y el hidrógeno juntos forman compuestos (o grupos) estables denominados hidrocarburos. Estos son no polares, no forman enlaces de hidrógeno y suelen ser insolubles en agua.



metano



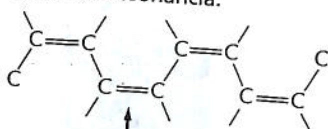
grupo metilo



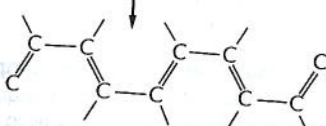
parte de la "cola" de hidrocarburo de una molécula de ácido graso

ENLACES DOBLES ALTERNANTES

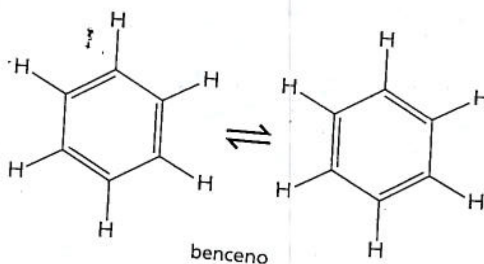
Una cadena de carbono puede incluir enlaces dobles. Si éstos se encuentran en átomos de carbono alternados, los electrones del enlace se mueven dentro de la molécula, lo que estabiliza la estructura mediante un fenómeno denominado resonancia.



Los enlaces dobles alternantes de un anillo pueden generar una estructura muy estable.



La estructura real es una forma intermedia entre estas dos



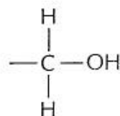
benceno

con frecuencia representado como 

COMPUESTOS C-O

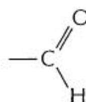
Muchos compuestos biológicos contienen un carbono unido a un oxígeno. Por ejemplo,

alcohol

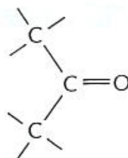


El –OH se denomina grupo hidroxilo.

aldehído

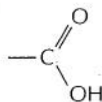


cetona



El C=O se denomina grupo carbonilo.

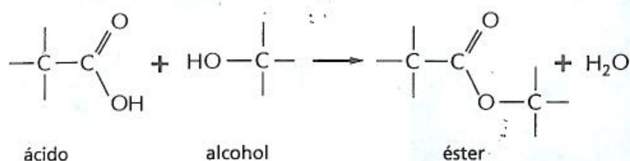
ácido carboxílico



El –COOH se denomina grupo carboxilo. En agua, éste pierde un ión H^+ y se convierte en $-COO^-$.

ésteres

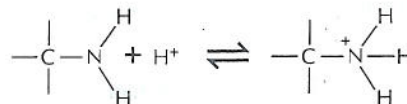
Los ésteres se forman por combinación de un ácido y un alcohol.



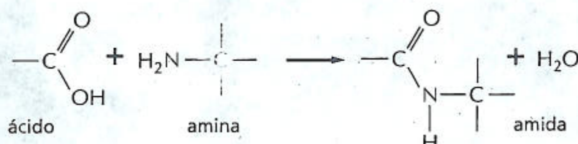
COMPUESTOS C-N

Las aminas y las amidas son dos ejemplos importantes de compuestos que contienen un carbono unido a un nitrógeno.

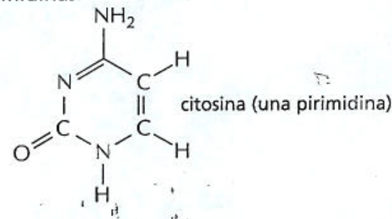
Las aminas se combinan en agua con un ión H^+ ion.



Las amidas se forman por combinación de un ácido y una amina. A diferencia de las aminas, las amidas no tienen carga. Un ejemplo es el enlace peptídico que une los aminoácidos de una proteína.

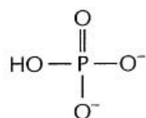


El nitrógeno también aparece en varios compuestos cíclicos, incluidos componentes importantes de los ácidos nucleicos: purinas y pirimidinas.

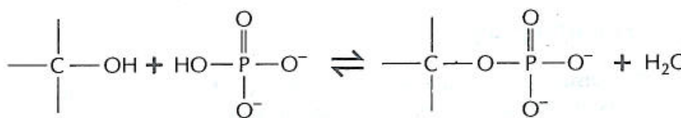


FOSFATOS

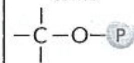
El fosfato inorgánico es un ión estable formado a partir del ácido fosfórico, H_3PO_4. A menudo se escribe como P_i.



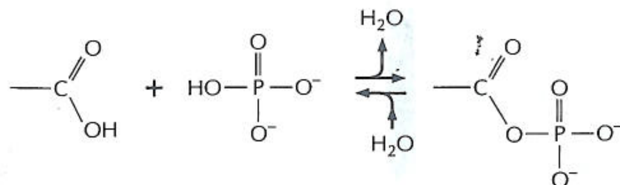
Se pueden formar ésteres de fosfato entre un grupo fosfato y un grupo hidroxilo libre. Los grupos fosforilo suelen unirse a las proteínas de esta manera.



también representado como

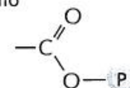


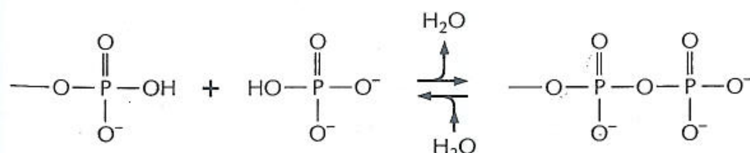
La combinación de un grupo fosfato y un grupo carboxilo libre, o dos o más grupos fosfato, dan origen a un anhídrido ácido.



enlace acil fosfato de alta energía (anhídrido de ácido carboxílico-fosfórico) observado en algunos metabolitos

también representado como





fosfoanhidrido: enlace de alta energía hallado en moléculas como el ATP

también representado como

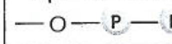
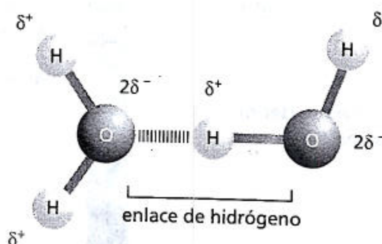


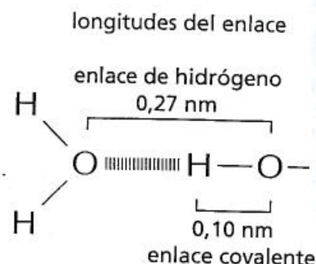
LÁMINA 2-2 Propiedades químicas del agua

ENLACES DE HIDRÓGENO

Como están polarizadas, dos moléculas adyacentes de H_2O pueden formar un enlace conocido como enlace de hidrógeno. Los enlaces de hidrógeno tienen sólo alrededor del 1/20 de la resistencia de un enlace covalente.

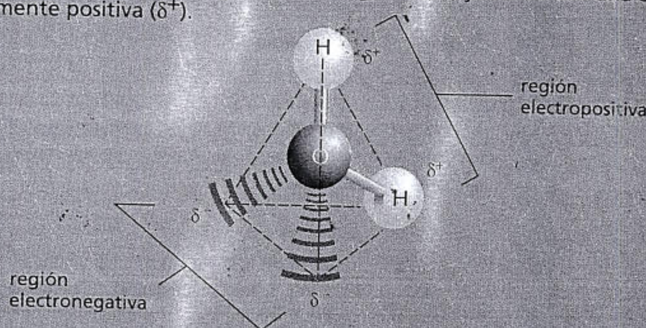
La resistencia de los enlaces de hidrógeno es máxima cuando los tres átomos se encuentran en línea recta.





AGUA

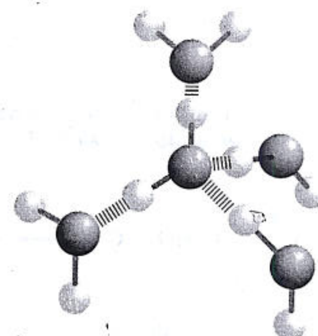
Dos átomos conectados por un enlace covalente pueden ejercer distintas atracciones sobre los electrones del enlace. En estos casos, el enlace es polar, con un extremo con una carga ligeramente negativa (δ^-) y el otro con una carga ligeramente positiva (δ^+).



Aunque una molécula de agua tiene una carga global neutral (tiene el mismo número de electrones y de protones), los electrones presentan una distribución asimétrica, que torna polar a la molécula. El núcleo de oxígeno atrae electrones y los aleja de los núcleos de hidrógeno, esto los deja con una pequeña carga positiva neta. El exceso de densidad de electrones en el átomo de oxígeno crea regiones débilmente negativas en los otros dos ángulos de un tetraedro imaginario. En estas páginas, se repasan las propiedades químicas del agua y se analiza cómo influye el agua en el comportamiento de las moléculas biológicas.

ESTRUCTURA DEL AGUA

Las moléculas de agua se unen transitoriamente y forman una red de enlaces de hidrógeno.



El carácter cohesivo del agua es responsable de muchas de sus propiedades inusuales, como la alta tensión superficial, el calor específico y el calor de vaporización.

MOLÉCULAS HIDRÓFILAS

Las sustancias que se disuelven en agua se denominan hidrófilas. Están compuestas por iones o moléculas polares que atraen moléculas de agua por los efectos de la carga eléctrica. Las moléculas de agua rodean a cada ión o a cada molécula polar de la superficie de un sólido de este tipo y los mantienen en solución.

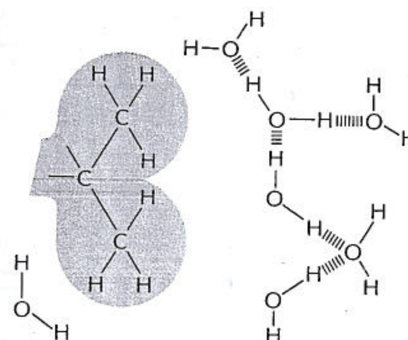


Las sustancias iónicas como el cloruro de sodio se disuelve porque las moléculas de agua son atraídas por la carga positiva (Na^+) o negativa (Cl^-) de cada ión.

Las sustancias polares como la urea se disuelven porque sus moléculas forma enlaces de hidrógeno con las moléculas hidrosolubles circundantes.

MOLÉCULAS HIDRÓFOBAS

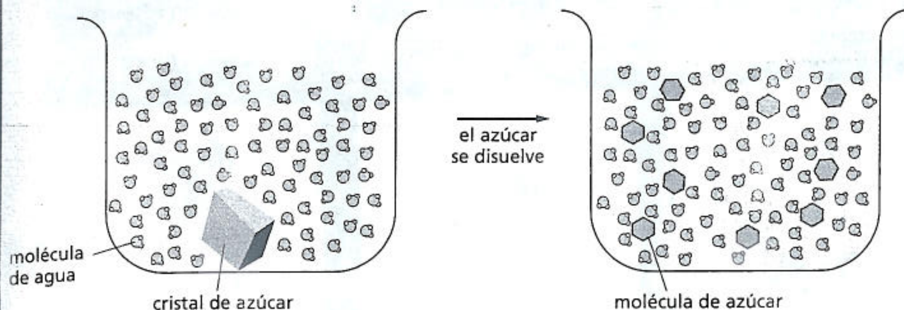
Las sustancias en las que predominan enlacen no polares suelen ser insolubles en agua y se denominan hidrófobas. Las moléculas de agua no son atraídas por sus moléculas y, así, tienen poca tendencia a rodearlas y mantenerlas en solución.



Los hidrocarburos, que contienen muchos enlaces C–H, son especialmente hidrófobos.

EL AGUA COMO SOLVENTE

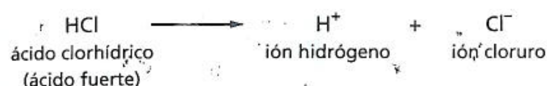
Muchas sustancias, como el azúcar de uso doméstico, se disuelven en agua. Es decir, sus moléculas se separan entre sí, y cada una queda rodeada de moléculas de agua.



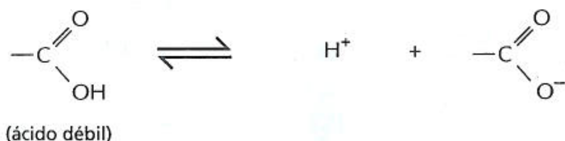
Cuando una sustancia se disuelve en un líquido, la mezcla se denomina solución. La sustancia disuelta (en este caso, azúcar) es el soluto, y el líquido que efectúa la disolución (en este caso, agua) es el solvente. El agua es un excelente solvente para muchas sustancias, debido a sus enlaces polares.

ÁCIDOS

Las sustancias que liberan iones hidrógeno en solución se denominan ácidos.



Muchos de los ácidos importantes de la célula no están disociados por completo y, por lo tanto, son ácidos débiles: p. ej., el grupo carboxilo (–COOH), que se disocia dando un ión hidrógeno en solución.

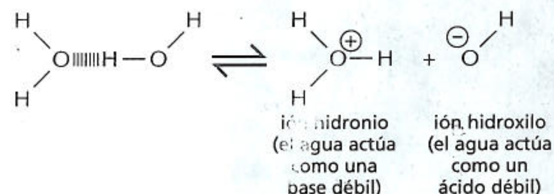


(ácido débil)

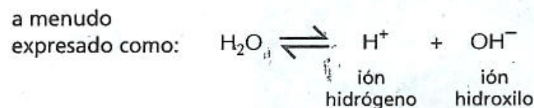
Obsérvese que ésta es una reacción reversible.

INTERCAMBIO DE IONES HIDRÓGENO

Los iones hidrógeno con carga positiva (H^+) pueden desplazarse en forma espontánea de una molécula de agua a otra, lo que genera dos especies iónicas.



a menudo expresado como:



Como el proceso es rápidamente reversible, los iones hidrógeno muestran un desplazamiento continuo entre las moléculas de agua. El agua pura contiene una concentración estable de iones hidronio e iones hidroxilo (ambos 10^{-7} M).

pH

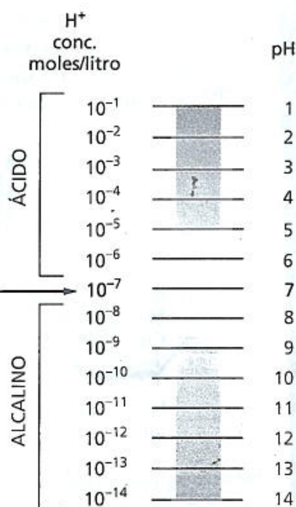
La acidez de una solución se define por la concentración de iones hidronio que contiene, en general abreviada como H^+. Por comodidad, se utiliza la escala de pH, donde

$$pH = -\log_{10}[H^+]$$

Para el agua pura

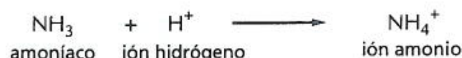
$$[H^+] = 10^{-7} \text{ moles/litro}$$

$$pH = 7{,}0$$



BASES

Las sustancias que reducen el número de iones hidrógeno de la solución se denominan bases. Algunas bases, como el amoníaco, se combinan directamente con iones hidrógeno.



Otras bases, como el hidróxido de sodio, reducen el número de iones H^+ de manera indirecta al generar iones OH^- que después se combinan directamente con iones H^+ y forman H_2O.



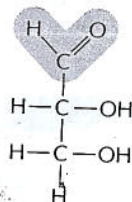
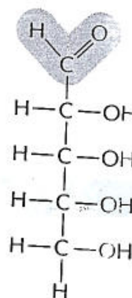
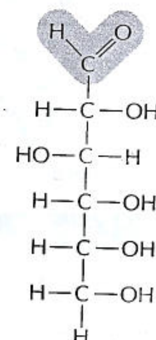
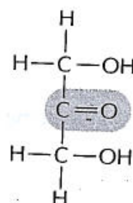
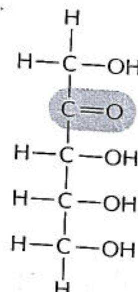
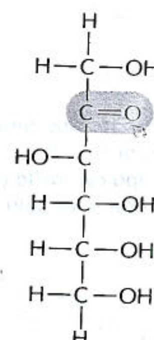
Muchas bases que se encuentran en las células están parcialmente asociadas con iones H^+ y se denominan bases débiles. Esto es válido para compuestos que contienen un grupo amino ($-NH_2$), que tiene una débil tendencia a aceptar de modo reversible un ión H^+ del agua, lo que aumenta la cantidad de iones OH^-.



LÁMINA 2-3 Esquema de algunos tipos de azúcares

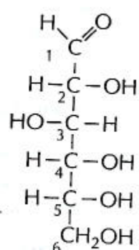
MONOSACÁRIDOS

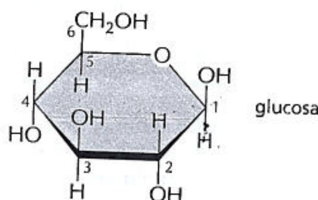
Los monosacáridos suelen tener la fórmula general $(CH_2O)_n$, donde *n* puede ser 3, 4, 5, ó 6 y tienen dos o más grupos hidroxilo. Contienen un grupo aldehído ($-C\lessgtr^{O}_{H}$) y se denominan aldosas, o un grupo cetona ($>C=O$) y se denominan cetosas.

	3 carbonos (TRIOSAS)	5 carbonos (PENTOSAS)	6 carbonos (HEXOSAS)
ALDOSAS	 gliceraldehído	 ribosa	 glucosa
CETOSAS	 dihidroxiacetona	 ribulosa	 fructosa

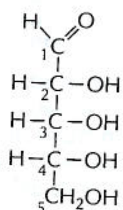
FORMACIÓN DE ANILLOS

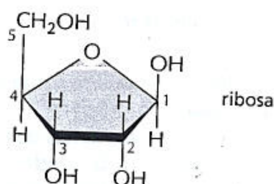
En solución acuosa, el grupo aldehído o cetona de una molécula de azúcar tiende a reaccionar con un grupo hidroxilo de la misma molécula, lo que cierra la molécula y forma un anillo.





glucosa



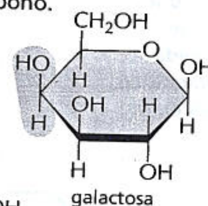


ribosa

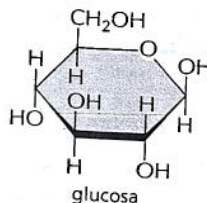
Obsérvese que cada átomo de carbono tiene un número.

ISÓMEROS

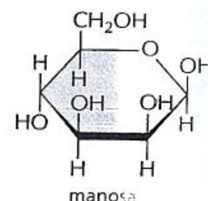
Muchos monosacáridos difieren sólo en la disposición espacial de los átomos: es decir, son isómeros. Por ejemplo, la glucosa, la galactosa y la manosa tienen la misma fórmula ($C_6H_{12}O_6$) pero difieren en la disposición de los grupos alrededor de uno o dos átomos de carbono.



galactosa



glucosa

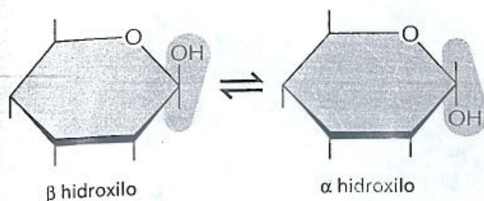


manosa

Estas pequeñas diferencias determinan sólo cambios menores en las propiedades químicas de los azúcares. Pero son reconocidos por enzimas y otras proteínas, y por lo tanto, pueden tener importantes efectos biológicos.

ENLACES α Y β

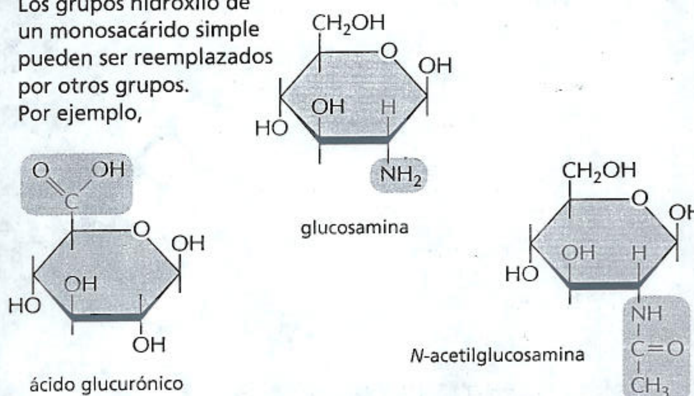
El grupo hidroxilo del carbono que lleva el aldehído o la cetona puede cambiar con rapidez de una posición a otra. Estas dos posiciones se denominan α y β.



En cuanto un azúcar se une a otro, se establece la forma α o β.

DERIVADOS DE AZÚCARES

Los grupos hidroxilo de un monosacárido simple pueden ser reemplazados por otros grupos. Por ejemplo,

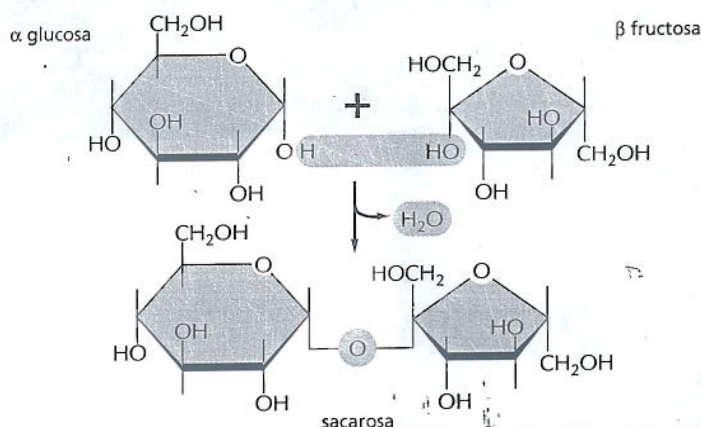


DISACÁRIDOS

El carbono que lleva el aldehído o la cetona puede reaccionar con cualquier grupo hidroxilo de una segunda molécula de azúcar y formar un disacárido. Tres disacáridos comunes son

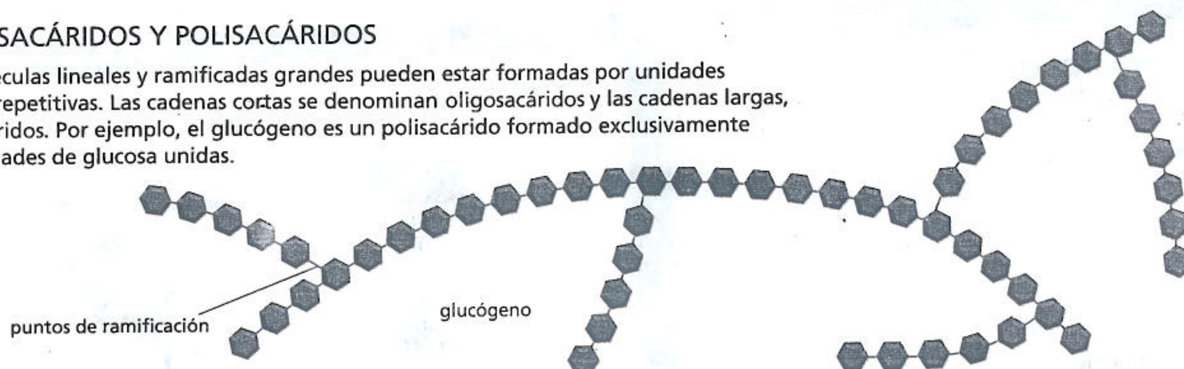
maltosa (glucosa + glucosa)
lactosa (galactosa + glucosa)
sacarosa (glucosa + fructosa)

Aquí se muestra la reacción que forma la sacarosa.



OLIGOSACÁRIDOS Y POLISACÁRIDOS

Las moléculas lineales y ramificadas grandes pueden estar formadas por unidades simples repetitivas. Las cadenas cortas se denominan oligosacáridos y las cadenas largas, polisacáridos. Por ejemplo, el glucógeno es un polisacárido formado exclusivamente por unidades de glucosa unidas.



OLIGOSACÁRIDOS COMPLEJOS

En muchos casos, una secuencia del azúcar no es repetitiva. Muchas moléculas diferentes son posibles. Los oligosacáridos complejos de este tipo suelen estar unidos a proteínas o a lípidos, como este oligosacárido, que forma parte de una molécula de la superficie celular, que define un grupo sanguíneo particular.

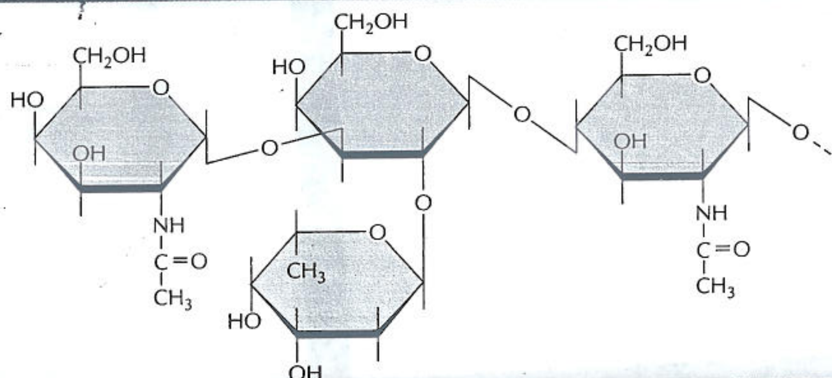


LÁMINA 2-4 Ácidos grasos y otros lípidos

ÁCIDOS GRASOS

Todos los ácidos grasos tienen grupos carboxilo con largas colas hidrocarbonadas.

Hay cientos de clases diferentes de ácidos grasos. Algunos tienen uno o más enlaces dobles en la cola hidrocarbonada y se dice que son insaturados. Los ácidos grasos sin enlaces dobles son saturados.

ácido esteárico (C_{18})

ácido palmítico (C_{16})

ácido oleico (C_{18})

ácido oleico

Este doble enlace es rígido y crea una incurvación en la cadena. El resto de la cadena puede rotar alrededor de los otros enlaces C–C.

modelo espacial

esqueleto de carbono

INSATURADO

ácido esteárico

SATURADO

TRIACILGLICEROLES

Los ácidos grasos se almacenan como reserva de energía (grasas y aceites) a través de un enlace éster con el glicerol lo que forma triacilgliceroles.

glicerol

GRUPO CARBOXILO

Si está libre, el grupo carboxilo de un ácido graso será ionizado.

Pero más a menudo está unido a otros grupos formando ésteres

o amidas.

FOSFOLÍPIDOS

Los fosfolípidos son los principales componentes de las membranas celulares.

grupo hidrófilo

colina

colas hidrófobas de los ácidos grasos

fosfatidilcolina

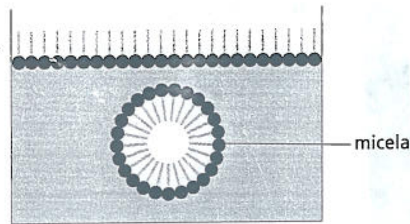
estructura general de un fosfolípido

En los fosfolípidos, dos de los grupos –OH del glicerol están unidos a ácidos grasos, mientras que el tercer grupo –OH está unido a ácido fosfórico. El fosfato está unido, además, a sólo una de una variedad de pequeños grupos polares (alcoholes).

AGREGADOS LIPÍDICOS

Los ácidos grasos tienen una cabeza hidrófila y una cola hidrófoba.

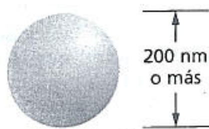




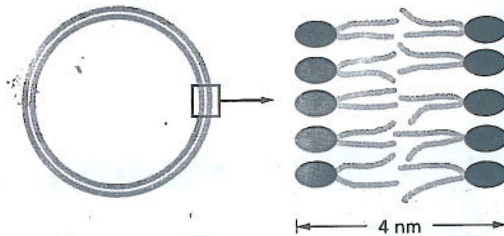
En agua, pueden formar una película superficial o pequeñas micelas.

Sus derivados pueden formar agregados más grandes que se mantienen unidos por fuerzas hidrófobas:

Los triacilgliceroles forman grandes gotas de grasa esféricas en el citoplasma.

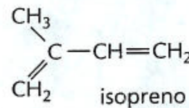


Los fosfolípidos y los glucolípidos forman bicapas lipídicas que son la base de todas las membranas celulares.



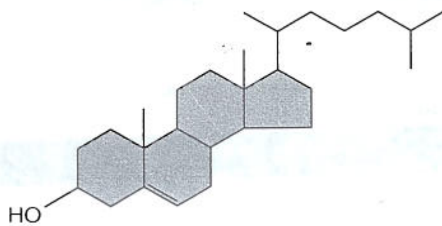
OTROS LÍPIDOS

Los lípidos se definen como las moléculas insolubles en agua de las células, que son solubles en solventes orgánicos. Otros dos tipos comunes de lípidos son los esteroides y los poliisoprenoides. Ambos están formados por unidades de isopreno.

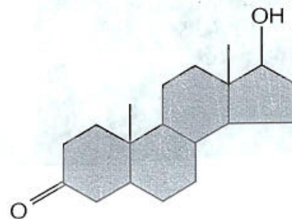


ESTEROIDES

Los esteroides tienen una estructura anular múltiple común.



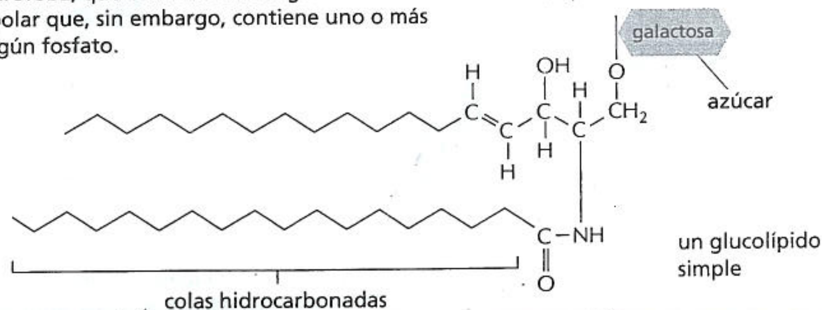
colesterol: hallado en muchas membranas



testosterona: hormona esteroide masculina

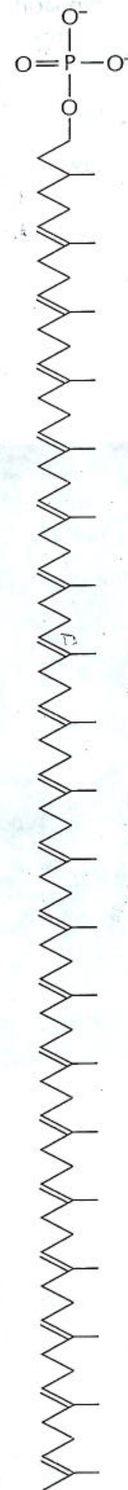
GLUCOLÍPIDOS

Al igual que los fosfolípidos, estos compuestos están formados por una región hidrófoba, que contiene dos largas colas hidrocarbonadas, y una región polar que, sin embargo, contiene uno o más azúcares y ningún fosfato.



POLIISOPRENOIDES

Polímeros de cadena larga de isopreno



Dolicol fosfato: utilizado en el transporte de azúcares activados en la síntesis asociada a la membrana de glucoproteínas y algunos polisacáridos.

LÁMINA 2-5 Los 20 aminoácidos presentes en las proteí

FAMILIAS DE AMINOÁCIDOS

Los aminoácidos comunes se agrupan según si sus cadenas laterales son

- ácidas
- básicas
- polares no cargadas
- no polares

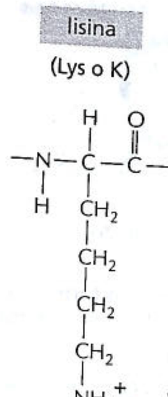
Estos 20 aminoácidos se abrevian con tres letras o con una letra.

Así, alanina = Ala = A

CADENAS LATERALES BÁSICAS

lisina

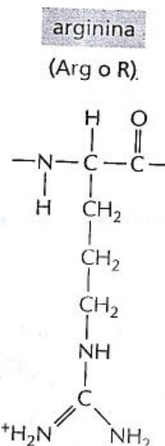
(Lys o K)



Este grupo es muy básico porque su carga positiva es estabilizada por resonancia.

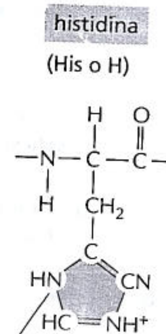
arginina

(Arg o R)



histidina

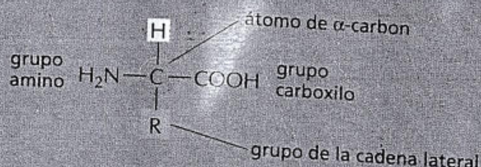
(His o H)



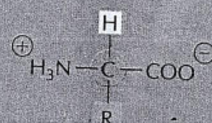
Estos nitrógenos tienen una afinidad relativamente débil por un H^+ y sólo son parcialmente positivos a pH neutro.

EL AMINOÁCIDO

La fórmula general de un aminoácido es



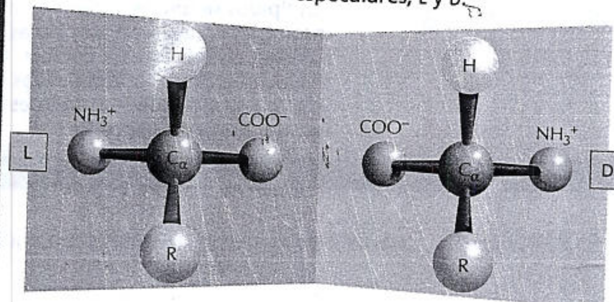
R suele ser una de 20 cadenas laterales diferentes. A pH 7, tanto el grupo amino como el carboxilo están ionizados.



Estas páginas presentan los aminoácidos hallados en las proteínas y muestran cómo se unen.

ISÓMEROS ÓPTICOS

El α-carbono es asimétrico, lo que permite dos isómeros (o estereoisómeros) con imágenes especulares, L y D.

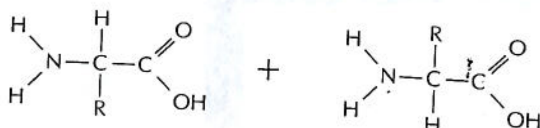


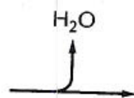
Las proteínas están formadas exclusivamente por L-aminoácidos.

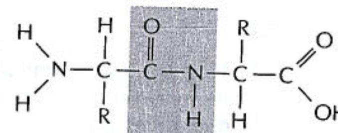
ENLACES PEPTÍDICOS

Los aminoácidos se suelen unir mediante un enlace amida, denominado enlace peptídico.

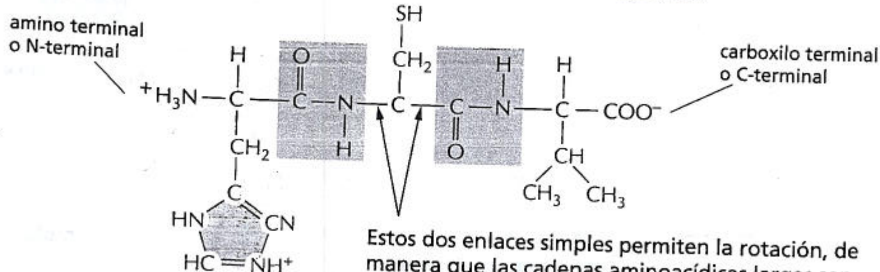
Los cuatro átomos de un enlace peptídico *(caja gris)* forman una unidad planar rígida. No hay rotación alrededor del enlace C–N.







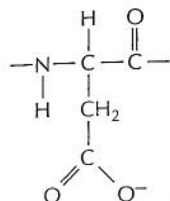
Las proteínas son polímeros largos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, y siempre se escriben con el N-terminal hacia la izquierda. La secuencia de este tripéptido es histidina-cisteína-valina.



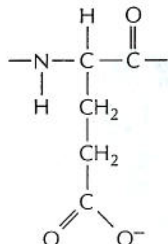
Estos dos enlaces simples permiten la rotación, de manera que las cadenas aminoacídicas largas son muy flexibles.

CADENAS LATERALES ÁCIDAS

ácido aspártico
(Asp o D)

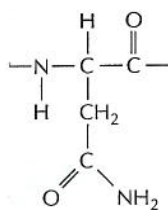


ácido glutámico
(Glu o E)

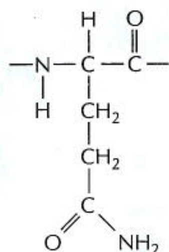


CADENAS LATERALES SIN CARGA

asparagina
(Asn o N)

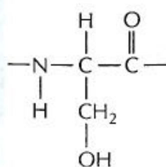


glutamina
(Gln o Q)

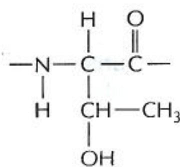


Aunque el N amida no tiene carga a pH neutro, es polar.

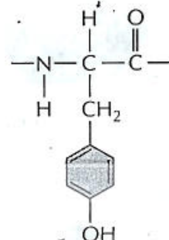
serina
(Ser o S)



treonina
(Thr o T)



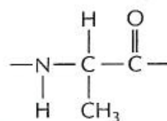
tirosina
(Tyr o Y)



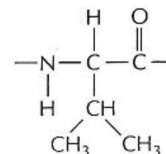
El grupo –OH es polar.

CADENAS LATERALES NO POLARES

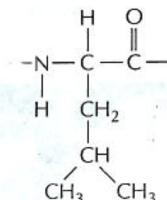
alanina
(Ala o A)



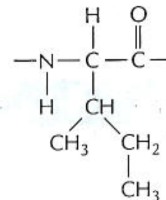
valina
(Val o V)



leucina
(Leu o L)



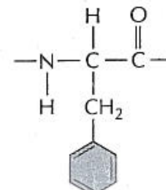
isoleucina
(Ile o I)



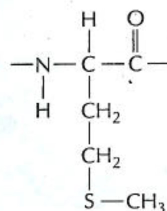
prolina
(Pro o P)



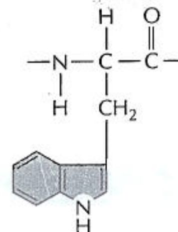
fenilalanina
(Phe o F)



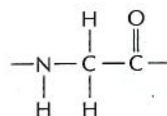
metionina
(Met o M)



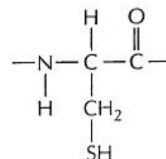
triptófano
(Trp o W)



glicina
(Gly o G)



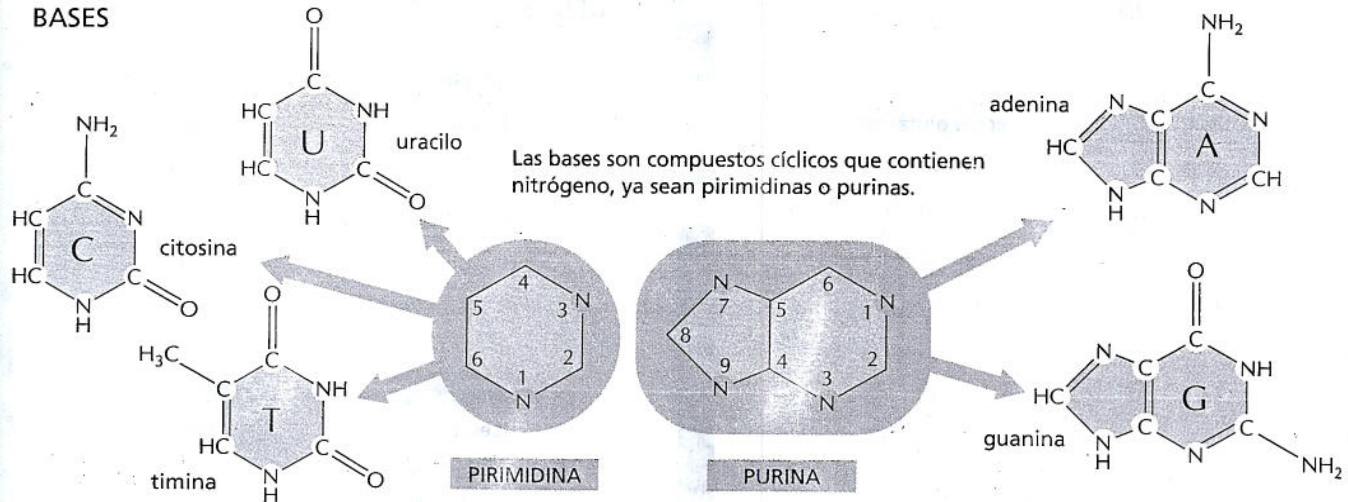
cisteína
(Cys o C)



Se pueden formar enlaces disulfuro entre dos cadenas laterales de cisteína de las proteínas.



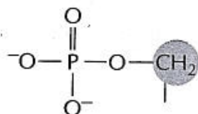
LÁMINA 2-6 Los nucleótidos



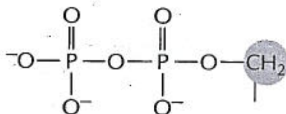
Las bases son compuestos cíclicos que contienen nitrógeno, ya sean pirimidinas o purinas.

FOSFATOS

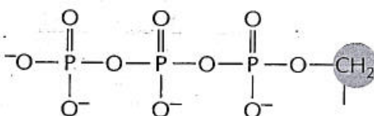
Por lo general, los fosfatos se unen al grupo C5'hidroxilo de la ribosa o de la desoxirribosa (designado 5'). Son comunes los mono-, di- y trifosfatos.



como en el AMP



como en el ADP

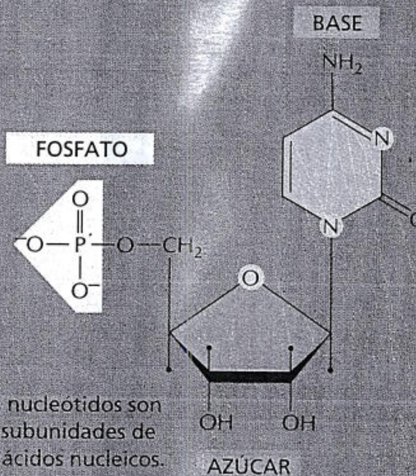


como en el ATP

El fosfato forma un nucleótido con carga negativa.

NUCLEÓTIDOS

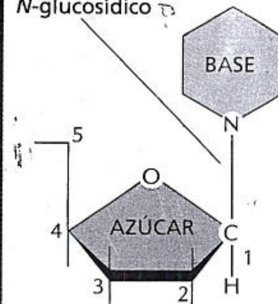
Un nucleótido consiste en una base nitrogenada, un azúcar de cinco carbonoso y uno o más grupos fosfato.



Los nucleótidos son las subunidades de los ácidos nucleicos.

ENLACE DE AZÚCAR BÁSICO

enlace *N*-glucosídico

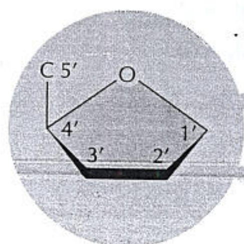


La base está unida al mismo carbono (C1) utilizado en los enlaces azúcar-azúcar.

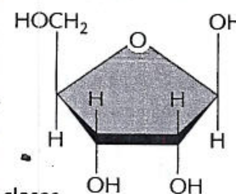
AZÚCARES

PENTOSA

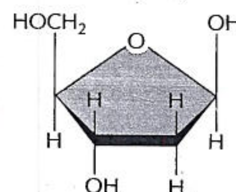
un azúcar de cinco carbonos



se utilizan dos clases



β-D-ribosa utilizada en el ácido ribonucleico



β-D-2-desoxirribosa utilizada en el ácido desoxirribonucleico

Cada carbón numerado del azúcar de un nucleótido es seguido de una marca prima; por lo tanto, se habla de "carbono 5′ prima", etcétera.

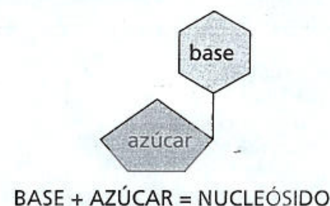
NOMENCLATURA

Los nombres pueden confundir, pero las abreviaturas son claras.

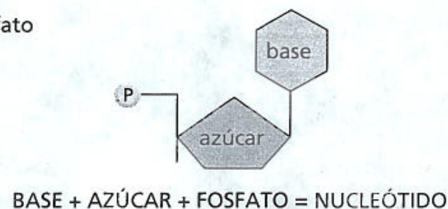
BASE	NUCLEÓSIDO	ABR.
adenina	adenosina	A
guanina	guanosina	G
citosina	citidina	C
uracilo	uridina	U
timina	timidina	T

Los nucleótidos se abrevian con tres letras mayúsculas. Por ejemplo:

AMP = adenosina monofosfato
dAMP = desoxiadenosina monofosfato
UDP = uridina difosfato
ATP = adenosina trifosfato



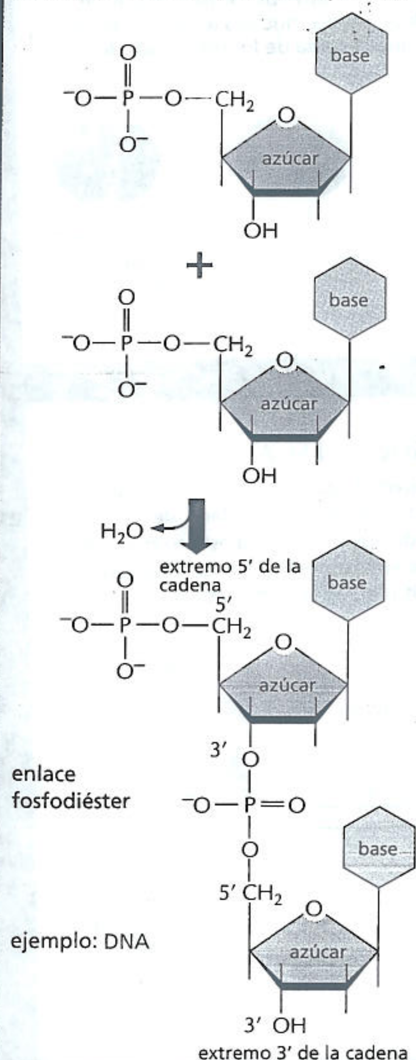
BASE + AZÚCAR = NUCLEÓSIDO



BASE + AZÚCAR + FOSFATO = NUCLEÓTIDO

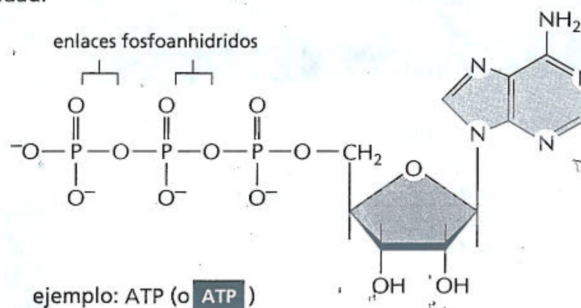
ÁCIDOS NUCLEICOS

Los nucleótidos se unen mediante un enlace fosfodiéster entre los átomos de carbono 3′ y 5′ y forman ácidos nucleicos. La secuencia lineal de nucleótidos de una cadena de ácido nucleico se suele abreviar con un código de una letra, A—G—C—T—T—A—C—A, con el extremo 5′ de la cadena a la izquierda.

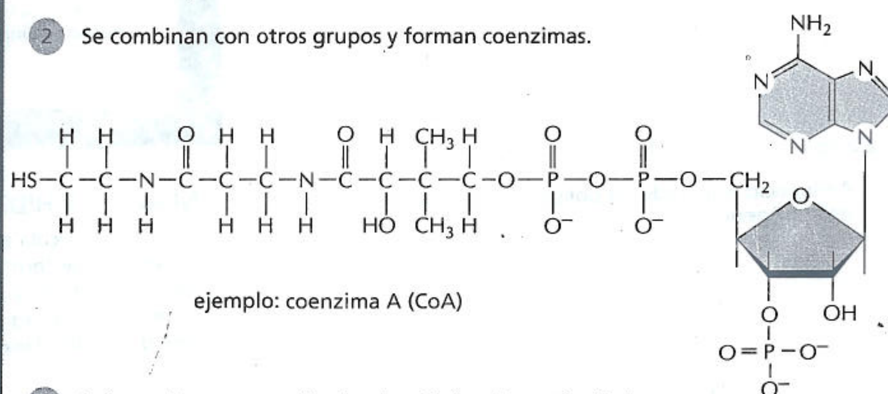


LOS NUCLEÓTIDOS CUMPLEN MUCHAS OTRAS FUNCIONES

1 Transportan energía química en sus enlaces fosfoanhidrido que se hidrolizan con facilidad.



2 Se combinan con otros grupos y forman coenzimas.



3 Se los utiliza como moléculas de señalización en la célula.

ejemplo: AMP cíclico

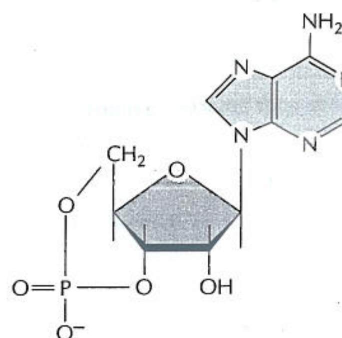
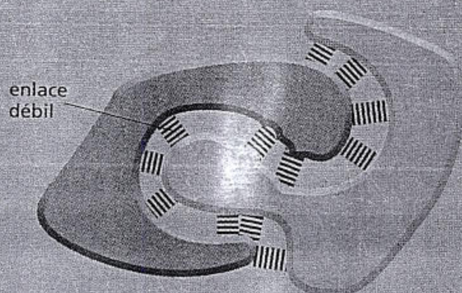


LÁMINA 2-7 Principales tipos de enlaces no covalentes débiles

ENLACES QUÍMICOS DÉBILES

Las moléculas orgánicas pueden interactuar con otras moléculas a través de tres tipos de fuerzas de atracción de corto alcance conocidas como *enlaces no covalentes:* atracciones de van der Waals, atracciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno. La repulsión de los grupos hidrófobos por el agua también es importante para ordenar las macromoléculas biológicas.



Los enlaces químicos débiles tienen menos del 1/20 de la fuerza de un enlace covalente fuerte. Son lo bastante fuertes para establecer una unión estrecha sólo cuando se forman simultáneamente muchos de ellos.

ENLACES DE HIDRÓGENO

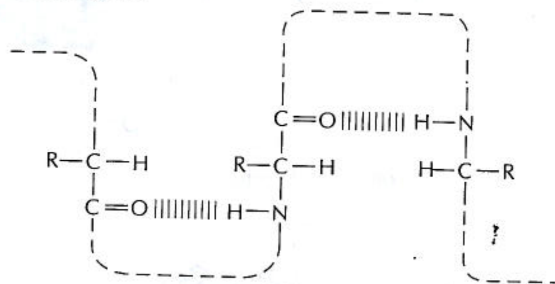
Como ya se mencionó en el caso del agua (véase Lámina 2-2, pp. 66-67), los enlaces de hidrógeno se forman cuando un átomo queda contenido entre dos átomos que atraen electrones (por lo general, oxígeno o nitrógeno).

Los enlaces de hidrógeno alcanzan su máxima fuerza cuando los tres átomos están en línea recta.

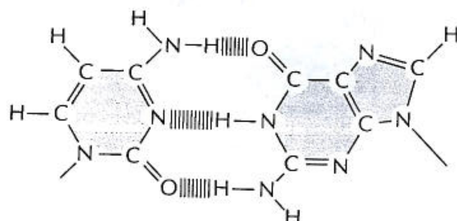


Ejemplos en macromoléculas:

Aminoácidos de cadenas polipeptídicas unidos por enlaces de hidrógeno.



Dos bases, G y C, unidas por enlaces de hidrógeno en el DNA o el RNA.



ATRACCIONES DE VAN DER WAALS

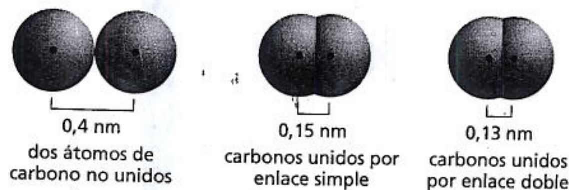
Si dos átomos están demasiado cerca, se repelen mutuamente con mucha fuerza. Por esta razón, con frecuencia es posible tratar a un átomo como una esfera de radio fijo. El "tamaño" característico de cada átomo es especificado por un radio de van der Waals único. La distancia de contacto entre dos átomos cualesquiera unidos en forma no covalente es la suma de sus radios de van der Waals.



radio de 0,12 nm | radio de 0,2 nm | radio de 0,15 nm | radio de 0,14 nm

A distancias muy cortas, dos átomos cualesquiera muestran una interacción de enlace débil, debido a sus cargas eléctricas fluctuantes. Los dos átomos estarán estructurados entre sí de esta manera hasta que la distancia entre sus núcleos sea aproximadamente igual a la suma de sus radios de van der Waals. Aunque individualmente son muy débiles, las atracciones de van der Waals se pueden volver importantes cuando dos superficies macromoleculares tienen una correspondencia muy estrecha, porque participan muchos átomos.

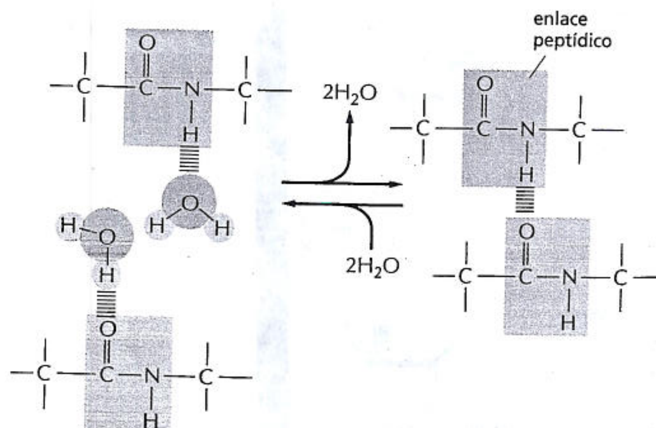
Obsérvese que cuando dos átomos forman un enlace covalente, sus centros (los dos núcleos atómicos) están mucho más juntos que la suma de los dos radios de van der Waals.



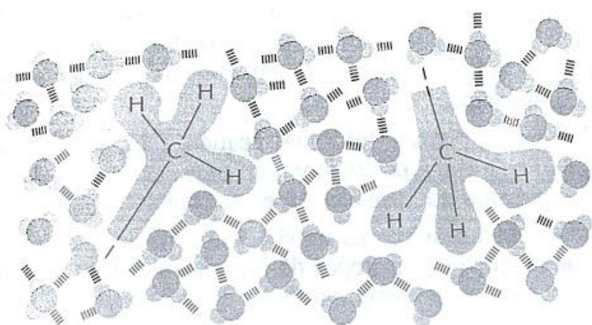
0,4 nm dos átomos de carbono no unidos | 0,15 nm carbonos unidos por enlace simple | 0,13 nm carbonos unidos por enlace doble

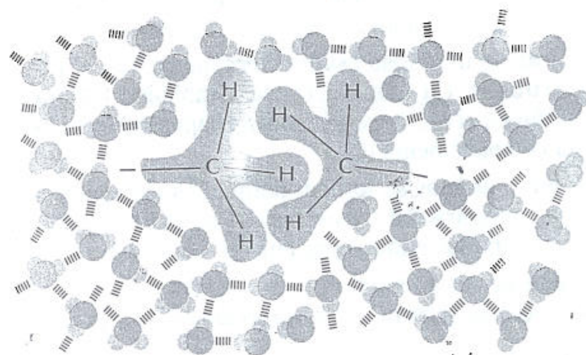
ENLACES DE HIDRÓGENO EN EL AGUA

Cualquier molécula que puede formar enlaces de hidrógeno con otra puede formar, alternativamente, enlaces de hidrógeno con moléculas de agua. Debido a esta competencia con moléculas de agua, los enlaces de hidrógeno formados entre dos moléculas disueltas en agua son relativamente débiles.



FUERZAS HIDRÓFOBAS

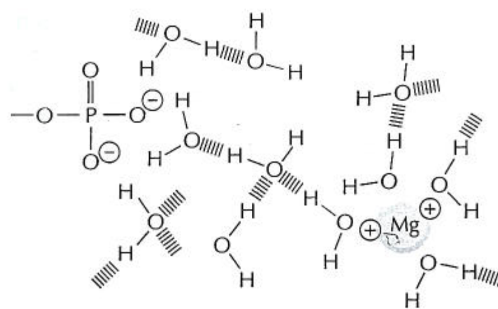




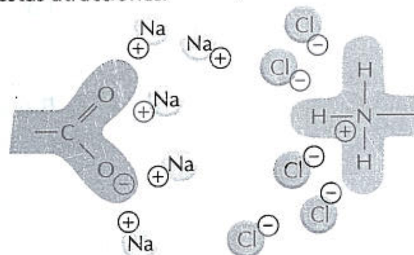
El agua fuerza la unión de los grupos hidrófobos y minimiza sus efectos disruptivos sobre la red de moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno. A veces se dice que los grupos hidrófobos que son mantenidos juntos de esta manera tienen "enlaces hidrófobos", aunque, en realidad, la atracción depende de la repulsión del agua.

ATRACCIONES ELECTROSTÁTICAS EN SOLUCIÓN ACUOSA

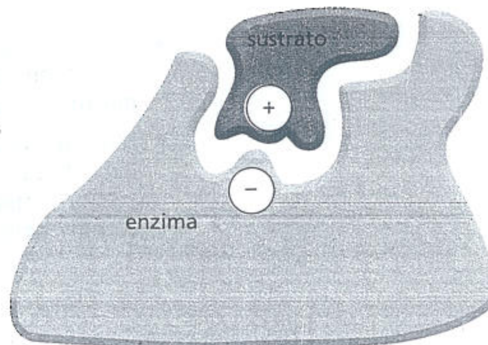
Los grupos con carga están protegidos por sus interacciones con moléculas de agua. Por lo tanto, las atracciones electrostáticas son bastantes débiles en el agua.



De modo similar, los iones se pueden agrupar alrededor de grupos con carga y debilitar aun más estas atracciones.

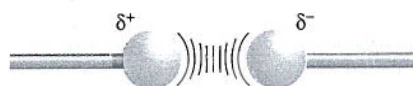


Pese a ser debilitadas por el agua y la sal, las atracciones electrostáticas son muy importantes en los sistemas biológicos. Por ejemplo, una enzima que se une a un sustrato con carga positiva a menudo tiene una cadena lateral aminoacídica de carga negativa en el lugar apropiado.



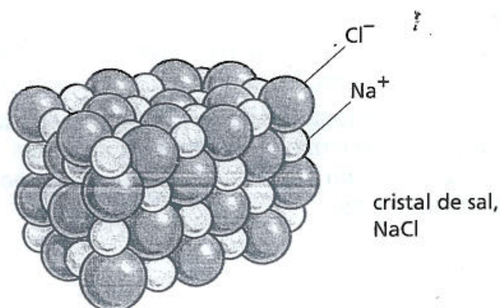
ATRACCIONES ELECTROSTÁTICAS

Entre los grupos con carga completa (enlace iónico) y entre los grupos con carga parcial de las moléculas polares, se producen interacciones interesantes.



La fuerza de atracción entre las dos cargas, δ^+ y δ^-, disminuye con rapidez a medida que aumenta la distancia entre las cargas.

En ausencia de agua, las fuerzas electrostáticas son muy fuertes. Son responsables de la resistencia de minerales, como mármol y ágata, y de la formación de cristales en la sal de mesa común, NaCl.



cristal de sal, NaCl

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las células vivas obedecen a las mismas leyes químicas y físicas que los objetos inanimados. Al igual que todas las otras formas de la materia, están compuestas por átomos, que son las unidades más pequeñas de un elemento químico que mantiene sus propiedades.
- Los átomos están compuestos por partículas más pequeñas. El núcleo del átomo contiene protones, que tienen carga positiva, y neutrones, que no poseen carga. El núcleo está rodeado por una nube de electrones con carga negativa.
- El número de electrones de un átomo es igual al número de protones de su núcleo. Los núcleos de los distintos isótopos de un mismo elemento contienen el mismo número de protones pero distinto número de neutrones.
- Las células vivas están compuestas por un número limitado de elementos, cuatro de los cuales –C, H, N, O– componen el 96,5% de su masa.
- Las propiedades químicas de un átomo están determinadas por el número y la disposición de sus electrones. Un átomo alcanza estabilidad máxima cuando todos sus electrones están en el nivel energético más bajo posible y cuando cada orbital electrónico está completamente lleno.
- Los enlaces químicos entre átomos se forman porque los electrones se desplazan hasta alcanzar una configuración más estable. Una molécula es la agrupación de dos o más átomos unidos entre sí por enlaces químicos.
- Cuando un electrón salta de un átomo a otro, se forman dos iones con carga opuesta; los enlaces iónicos se forman por la atracción mutua de estos átomos cargados.
- Cuando dos átomos adyacentes comparten un par de electrones, se forma un enlace covalente. Si se comparten dos pares de electrones se forma un enlace doble.
- Los organismos vivos contienen un conjunto característico y restringido de pequeñas moléculas compuestas basadas en el carbono que son esencialmente iguales en todas las especies vivas. Las categorías principales son los azúcares, los ácidos grasos, los aminoácidos y los nucleótidos.
- Los azúcares son una fuente primaria de energía química para las células y se pueden incorporar a polisacáridos que almacenan energía.
- Los ácidos grasos también son importantes como reserva de energía, pero su función primordial es la formación de las membranas celulares.
- La gran mayoría de la masa seca de una célula está formada por macromoléculas, que son polímeros de azúcares, de aminoácidos o de nucleótidos.
- Las macromoléculas tienen un tamaño y una complejidad intermedios entre las pequeñas moléculas y los orgánulos celulares. Muchas de las notables propiedades de las macromoléculas no pueden deducirse con facilidad a partir de las subunidades que las forman.
- Los polímeros formados por aminoácidos constituyen las proteínas, que representan una clase muy diversa y versátil de macromoléculas.
- Los nucleótidos desempeñan una función central en la transferencia de energía y son las subunidades que componen el RNA y el DNA, las macromoléculas de la información.
- Las moléculas de proteínas, RNA y de DNA son sintetizadas a partir de subunidades mediante reacciones de condensación repetitivas. Cada una de estas macromoléculas biológicas tiene una secuencia única de subunidades.
- Entre distintas regiones de una macromolécula, se forman enlaces no covalentes débiles. Estos enlaces pueden determinar que la macromolécula se pliegue en una forma tridimensional única con propiedades especiales, como se observa muy notoriamente en las proteínas.

PALABRAS CLAVE

ácido	enlace de hidrógeno	monómero
ácido graso	enlace iónico	nucleótido
aminoácido	enlace no covalente	número de Avogadro
amortiguador (*buffer*)	enlace químico	peso atómico
átomo	escala de pH	peso molecular
ATP	grupo químico	polar
atracción electrostática	hidrófilo	polímero
azúcar	hidrófobo	proteína
base	hidrólisis	protón
conformación	ión	reacción de condensación
DNA	ión hidronio	RNA
electrón	macromolécula	secuencia
enlace covalente	molécula	subunidad

PREGUNTAS

PREGUNTA 2-11

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Justifique sus respuestas.

A. El núcleo de un átomo contiene protones y neutrones.

B. El átomo tiene más electrones que protones.

C. El núcleo está rodeado por una doble membrana.

D. Todos los átomos de un mismo elemento tienen el mismo número de neutrones.

E. El número de neutrones determina si el núcleo de un átomo es estable o radiactivo.

F. Los ácidos grasos y los polisacáridos pueden ser importantes reservas de energía en la célula.

G. Los enlaces de hidrógeno son débiles y pueden romperse por energía térmica; sin embargo, contribuyen en gran medida a la especificidad de las interacciones entre las macromoléculas.

PREGUNTA 2-12

Para tener una mejor noción de las dimensiones del átomo, supongamos que la página en la que está impresa esta pregunta está hecha de celulosa, un polisacárido cuyas moléculas se describen con la fórmula ($C_nH_{2n}O_n$), en donde *n* puede ser un número bastante grande y varía de una molécula a otra. Los pesos atómicos del carbono, el hidrógeno y el oxígeno son 12, 1 y 16, respectivamente, y esta página pesa 5 g.

A. ¿Cuántos átomos de carbono hay en esta página?

B. En la celulosa, ¿cuántos átomos de carbono se podrían apilar uno encima del otro para abarcar el grosor de esta página (el tamaño de la página es de 21,2 cm × 27,5 cm y su grosor es de 0,07 mm)?

C. Considere ahora el problema desde otro punto de vista. Suponga que la página está compuesta sólo por átomos de carbono. Un átomo de carbono tiene un diámetro de 2×10^{-10} m (0,2 nm); ¿cuántos átomos de carbono de 0,2 nm de diámetro serían necesarios para abarcar el grosor de la página?

D. Compare sus respuestas con los ítems B y C y explique cualquier diferencia.

PREGUNTA 2-13

A. ¿Cuántos electrones puede contener el primero, el segundo y el tercer orbital de un átomo?

B. ¿Cuántos electrones deberían recibir o ceder los átomos de los siguientes elementos para obtener grupos de niveles de energía completamente llenos?

Helio	Recibe __	Pierde __
Oxígeno	Recibe __	Pierde __
Carbono	Recibe __	Pierde __
Sodio	Recibe __	Pierde __
Cloro	Recibe __	Pierde __

C. ¿Qué le dicen las respuestas acerca de los enlaces que se pueden formar entre el sodio y el cloro?

PREGUNTA 2-14

El oxígeno y el azufre tienen propiedades químicas similares porque ambos tienen seis electrones en su orbital más externo. De hecho, ambos elementos forman moléculas con dos átomos de hidrógeno: el agua (H_2O) y el sulfuro de hidrógeno (H_2S). El agua es líquida y el H_2S es un gas, a pesar de que el azufre es mucho más grande y pesado que el oxígeno. Explique por qué podría ser así.

PREGUNTA 2-15

Escriba la fórmula química de la reacción de condensación de dos aminoácidos que forman un enlace peptídico. Escriba la fórmula de su hidrólisis.

PREGUNTA 2-16

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Justifique sus respuestas.

A. Las proteínas son tan diversas porque cada una de ellas está formada por una combinación única de aminoácidos unidos al azar.

B. Las bicapas lipídicas son macromoléculas compuestas principalmente por subunidades de fosfolípidos.

C. Los ácidos nucleicos contienen grupos de azúcares.

D. Muchos aminoácidos tienen cadenas laterales hidrófobas.

E. Las colas hidrófobas de las moléculas de fosfolípidos son repelidas por el agua.

F. El DNA contiene las cuatro bases diferentes A, G, U y C.

PREGUNTA 2-17

A. ¿Cuántas moléculas diferentes compuestas por (a) dos, (b) tres y (c) cuatro aminoácidos unidos por enlaces peptídicos se pueden formar a partir de los 20 aminoácidos presentes en la naturaleza?

B. Suponga que le dieran una mezcla formada por una molécula de cada una de todas las secuencias posibles de una proteína diminuta de peso molecular de 4.800 daltons. Si el peso promedio de un aminoácido es de 120 daltons, ¿cuánto pesaría la muestra? ¿Qué tamaño debería tener el recipiente necesario para contenerla?

C. ¿Qué le dice este cálculo acerca de la fracción de proteínas posibles que utilizan en la actualidad los organismos vivos (el peso molecular promedio de las proteínas es de alrededor de 30.000)?

PREGUNTA 2-18

Éste es un texto de biología. Explique por qué son importantes los principios químicos descritos en este capítulo en el contexto de la biología celular moderna.

PREGUNTA 2-19

A. Describa las similitudes y las diferencias existentes entre las fuerzas de atracción de van der Waals y los enlaces de hidrógeno.

B. ¿Cuál de los dos enlaces se formaría (a) entre dos hidrógenos unidos a átomos de carbono, (b) entre un átomo de nitrógeno y un átomo de hidrógeno unidos a un átomo de carbono y (c) entre un átomo de nitrógeno y un átomo de hidrógeno unidos a un átomo de oxígeno?

PREGUNTA 2-20

¿Cuáles son las fuerzas que determinan el plegamiento de una macromolécula en una forma característica?

PREGUNTA 2-21

Se dice que los ácidos grasos son "anfipáticos", ¿qué significa ese término, y cómo se comporta una molécula anfipática en el agua? Dibuje un diagrama para ilustrar su respuesta.

PREGUNTA 2-22

¿Las fórmulas de la figura P2-22 son correctas o incorrectas? Justifique su respuesta en cada caso.

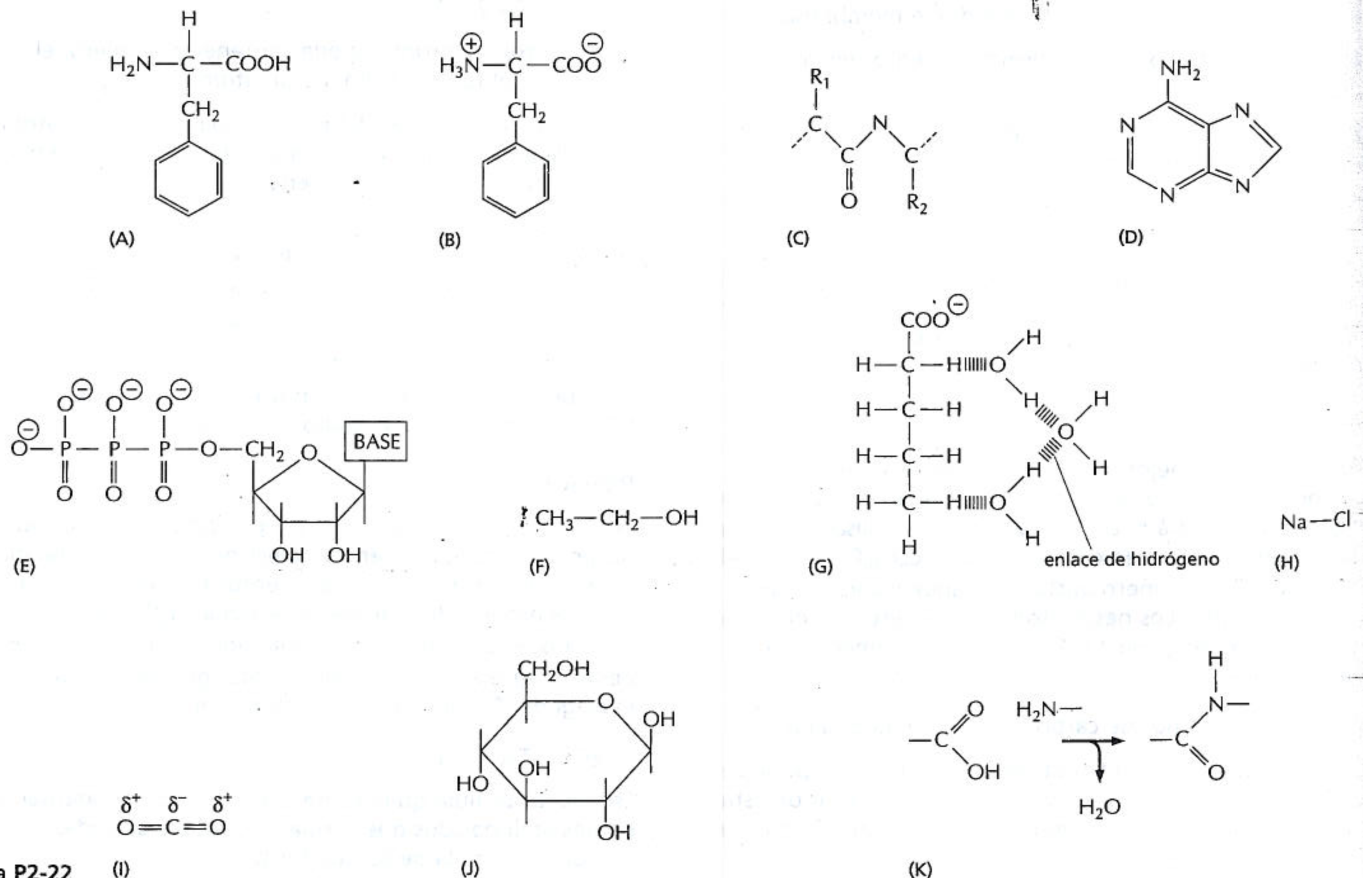


Figura P2-22

CAPÍTULO **TRES** 3

Energía, catálisis y biosíntesis

UTILIZACIÓN DE ENERGÍA POR LAS CÉLULAS

ENERGÍA LIBRE Y CATÁLISIS

MOLÉCULAS TRANSPORTADORAS ACTIVADAS Y BIOSÍNTESIS

Una propiedad por encima de todas hace que los seres vivos parezcan casi milagrosamente diferentes de la materia inerte: la capacidad de crear y mantener un orden en un universo que tiende siempre a generar un desorden mayor. Para crear este orden, las células de un organismo vivo deben llevar a cabo un flujo continuo de reacciones químicas que nunca termina. En alguna de estas reacciones, las moléculas orgánicas pequeñas –aminoácidos, azúcares, nucleótidos y lípidos– se separan o modifican para suministrar todas las otras moléculas pequeñas que la célula requiere. En otras reacciones, estas moléculas pequeñas se utilizan para construir un espectro enormemente variado de proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas, que confieren a los sistemas vivos sus características más distintivas. Cada célula puede ser considerada una fábrica química diminuta, que realiza varios millones de reacciones por segundo.

Para realizar todas las reacciones químicas necesarias para mantenerse, un organismo vivo necesita no sólo una fuente de átomos en forma de moléculas de alimento, sino también una fuente de energía. Tanto los átomos como la energía deben provenir, en última instancia, del ambiente no vivo. En este capítulo, se explica por qué las células requieren energía, y cómo usan esta energía y los átomos del ambiente para crear el orden molecular que hace posible la vida.

La mayoría de las reacciones químicas que toda célula realiza se producirían normalmente sólo a temperaturas mucho más altas de las que existen en el interior celular. Por lo tanto, cada reacción necesita un refuerzo importante de su reactividad química. Este refuerzo se ejerce por medio de proteínas especializadas denominadas *enzimas* cada una de las cuales acelera, o *cataliza*, sólo uno de los varios tipos de reacciones posibles que una determinada molécula podría realizar. Estas reacciones catalizadas por enzimas suelen estar conectadas en serie, de manera que el producto de una reacción se transforma en el material inicial de la próxima (Fig. 3-1). A su vez, estas largas vías lineales de reacción, o *vías metabólicas*, están vinculadas entre sí, lo que forma una red compleja de reacciones interconectadas.

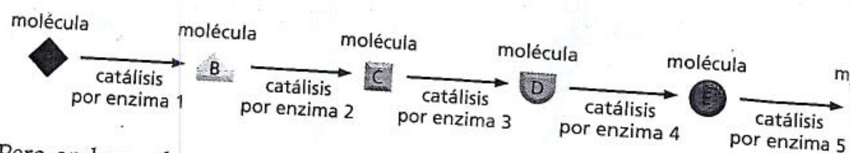


Figura 3-1. Una serie de reacciones catalizadas por enzimas forman una vía metabólica. Cada enzima cataliza una reacción química que involucra a una molécula particular. En este ejemplo, un conjunto de enzimas, que actúan en serie, convierten la molécula A en la molécula F y constituyen una vía metabólica.

Pero en lugar de ser un inconveniente, la necesidad de *catálisis* es un beneficio porque permite que la célula controle con precisión su **metabolismo**: la suma total de todas las reacciones químicas que requiere para sobrevivir, crecer y reproducirse. Este control es esencial para la química de la vida.

En la célula, se producen dos corrientes opuestas de reacciones químicas, las *vías catabólicas* y las *vías anabólicas*. Las vías catabólicas (**catabolismo**) degradan los nutrientes en moléculas más pequeñas, lo que genera tanto una forma de energía útil para la célula como algunas de las moléculas pequeñas que la célula necesita como componentes. Las vías anabólicas o *biosintéticas* (**anabolismo**) utilizan la energía generada por el catabolismo para impulsar la síntesis de las numerosas moléculas que forman la célula. En conjunto, estos dos tipos de reacciones constituyen el metabolismo de la célula (Fig. 3-2).

El metabolismo celular es la materia de estudio de la *bioquímica*, cuyos detalles no nos conciernen en este momento. Pero los principios generales mediante los cuales las células obtienen energía del ambiente y la utilizan para crear orden son temas esenciales de la biología celular. Este capítulo comienza con el análisis de por qué se requiere un aporte continuo de energía para mantener a los organismos vivos. Después, se considera cómo catalizan las enzimas las reacciones que generan orden biológico. Por último, se describen las moléculas que transportan la energía que hace posible la vida.

UTILIZACIÓN DE ENERGÍA POR LAS CÉLULAS

Los objetos inertes librados a ellos mismos se pueden desordenar con el tiempo: los edificios se derrumban, y los organismos muertos se descomponen. Por el contrario, las células vivas no sólo mantienen, sino que en realidad generan orden en todos los niveles, desde la estructura macroscópica de una mariposa o de una flor hasta la organización atómica de las moléculas que componen estos organismos (Fig. 3-3). Esta propiedad de la vida es posible gracias a mecanismos celulares elaborados que extraen energía del medio y la convierten en energía almacenada en enlaces químicos. Por lo tanto, las estructuras biológicas pueden mantener su forma, aunque los materiales que las componen sean reemplazados y reciclados continuamente. Su cuerpo tiene hoy la misma estructura básica de hace 10 años, aunque ahora contiene átomos que, en su mayor parte, no estaban en su cuerpo entonces.

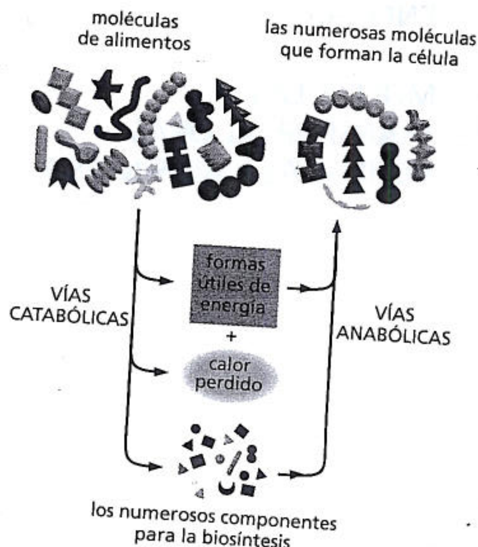


Figura 3-2. Las vías catabólicas y anabólicas constituyen en conjunto el metabolismo de la célula. Obsérvese que una proporción considerable de la energía almacenada en los enlaces químicos de las moléculas de los alimentos se disipa en forma de calor. Por lo tanto, sólo parte de esta energía se puede convertir a las formas útiles de energía requeridas para impulsar la síntesis de moléculas nuevas.

El orden biológico es posible por la liberación de energía calórica de las células

La tendencia universal de los objetos a desordenarse está expresada en una de las leyes fundamentales de la física –la *segunda ley de la termodinámica*– que sostiene que en el universo, o en cualquier sistema aislado (un conjunto de materia completamente aislado del resto del universo), el grado de desorden sólo puede aumentar. Esta ley tiene implicaciones tan profundas para los seres vivos que vale la pena reformularla de varias maneras.

Se puede expresar la segunda ley en términos de probabilidad y sostener que los sistemas *se modificarán espontáneamente hacia aquellas disposiciones con la mayor probabilidad de producirse*. Si se considera, por ejemplo, una caja con 100 monedas todas colocadas de cara, una serie de eventos que afecten a la caja tenderán a modificar el orden en que estaban las monedas a una mezcla con 50 monedas de cara y 50 de ceca. La razón es sencilla: hay una enorme cantidad de combinaciones posibles de la orientación de las monedas que pueden producir el resultado 50 y 50, pero existe sólo una combinación posible que las mantiene

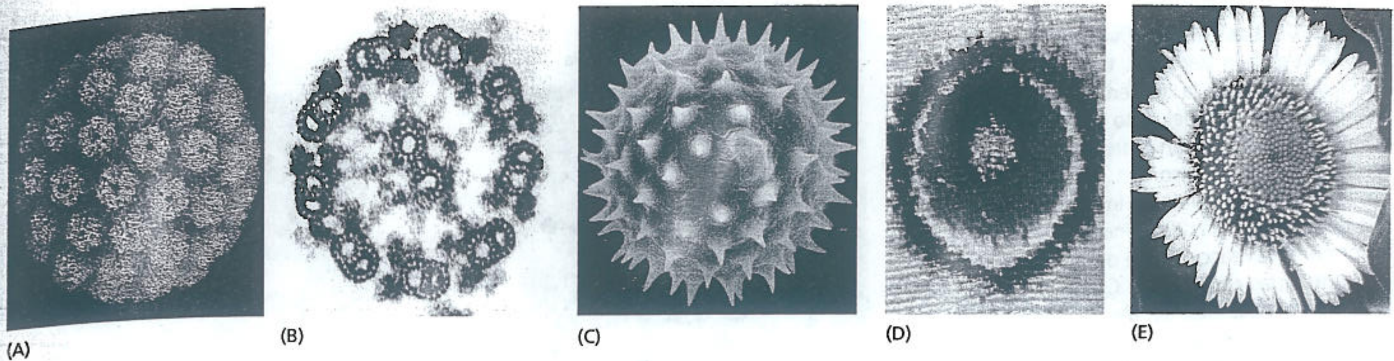


Figura 3-3. **Las estructuras biológicas son muy ordenadas.** Se pueden encontrar patrones espaciales bien definidos, ornamentados y hermosos, en todos los niveles de organización de los organismos vivos. En orden de tamaño creciente: (A), moléculas proteicas de la cápsula de un virus (un parásito que, aunque técnicamente no está vivo, contiene los mismos tipos de moléculas que las células vivas); (B), disposición regular de los microtúbulos de la cola de un espermatozoide, vistos en sección transversal; (C), contornos de la superficie de un grano de polen (una sola célula); (D), primer plano del ala de una mariposa que muestra el patrón generado por las escamas, cada una de las cuales es el producto de una única célula; (E), flor con una disposición en espiral de las semillas, formadas cada una por millones de células. (A, cortesía de Robert Grant, Stéphane Crainic y James M. Hogle; B, cortesía de Lewis Tilney; C, cortesía de Colin MacFarlane y Chris Jeffree; D y E, cortesía de Kjell B. Sandved.)

todas de cara. Como la mezcla 50 y 50 tiene mayor número de probabilidades y genera menos limitaciones en la orientación de cada moneda, se dice que es más "desordenada". Por la misma razón, el espacio en el que vivimos se desordena cada vez más si no hay un esfuerzo intencional para mantenerlo organizado. El movimiento hacia el desorden es un proceso espontáneo, que exige un esfuerzo periódico para revertirlo (Fig. 3-4).

La medida del desorden de un sistema se denomina **entropía** del sistema, y cuanto mayor es el desorden, mayor es la entropía. Por esa razón, otra manera de expresar la segunda ley de la termodinámica es decir que los sistemas se modifican espontáneamente hacia configuraciones con mayor entropía. Las células vivas –al sobrevivir, crecer y formar comunidades complejas e, incluso, organismos completos– generan un orden, y podría parecer que desafían la segunda ley de la termodinámica. Sin embargo, éste no es el caso, porque una célula no es un sistema aislado. Más bien, incorpora energía de su ambiente –en forma de nutrientes, moléculas inorgánicas o fotones de la luz solar– y después, utiliza esta energía para generar orden dentro de sí misma al formar nuevos enlaces químicos o sintetizar grandes macromoléculas. En el curso de las reacciones químicas que generan orden, la energía del enlace químico se transforma en calor. El calor es energía en su forma más desordenada: la colisión al azar de las moléculas (análoga a la colisión aleatoria de las monedas de la caja). Como la célula no es un sistema aislado, la energía calórica que producen sus reacciones se dispersa rápidamente hacia su entorno. Allí, el calor aumenta la intensidad del movimiento térmico de las moléculas residentes, lo que aumenta la entropía del medio (Fig. 3-5).

La cantidad de calor liberada por la célula debe ser suficiente para que el orden generado dentro de la célula se vea compensado por la disminución del orden del



Figura 3-4. **El impulso espontáneo hacia el desorden es una experiencia cotidiana.** Sin embargo, el restablecimiento del orden no se produce en forma espontánea. Así, revertir esta tendencia natural hacia el desorden exige un esfuerzo intencional y un aporte de energía. En efecto, de acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, es posible asegurar que la intervención humana requerida liberará suficiente cantidad de calor al medio ambiente que compensa sobradamente el reordenamiento de los objetos de esta habitación.

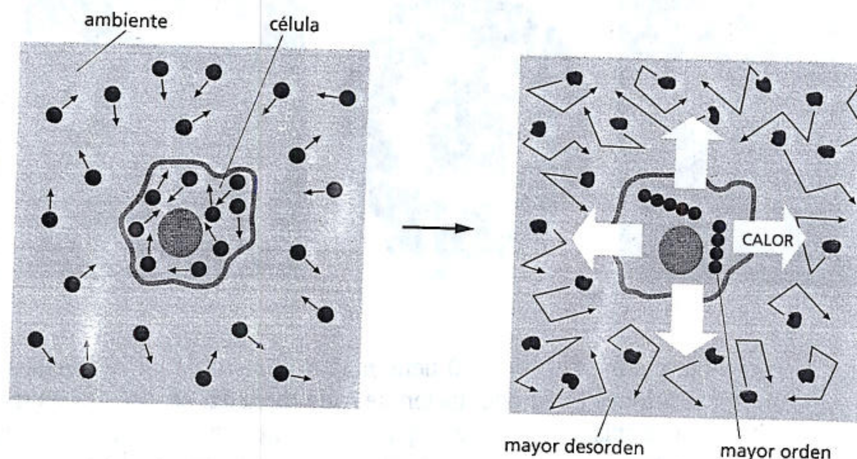


Figura 3-5. Las células vivas no contradicen la segunda ley de la termodinámica. En el diagrama de la *izquierda*, las moléculas de una célula y las del resto del universo (el medio ambiente) están representadas en un estado de relativo desorden. En el diagrama de la *derecha*, la célula ha incorporado energía de las moléculas de alimento y liberado calor por una reacción que ordena las moléculas contenidas en la célula. Como el calor aumenta el desorden del medio que rodea a la célula (representado por las flechas *quebradas*, que indican aumento del movimiento térmico, y la distorsión de las moléculas, que indican aumento de la vibración y la rotación molecular), se cumple la segunda ley de la termodinámica, que sostiene que la cantidad de desorden en el universo siempre debe aumentar, aun cuando la célula crezca y se divida.

ambiente. Sólo en este caso se cumple la segunda ley de la termodinámica, porque la entropía total del sistema –la de la célula más la de su medio– aumenta como resultado de las reacciones químicas intracelulares.

¿De dónde proviene el calor que libera la célula? Según la *primera ley de la termodinámica*, la energía se puede transformar de una forma a otra, pero no puede ser creada ni destruida. En la figura 3-6, se ilustran las interconversiones de algunas formas de energía. La cantidad de energía presente en formas diferentes se modifica como resultado de las reacciones químicas intracelulares, pero la primera ley afirma que la cantidad total de energía del universo debe ser siempre la misma. Por ejemplo, cuando una célula animal degrada sustancias alimenticias, parte de la energía presente en los enlaces químicos de las moléculas de alimento (energía de enlace química) se convierte en movimiento térmico de las moléculas (energía calórica). Esta transformación de energía química en energía calórica es esencial para que las reacciones intracelulares provoquen un desorden mayor de todo el universo, como lo exige la segunda ley.

Sin embargo, la célula no puede obtener ningún beneficio de la energía calórica que produce, a menos que las reacciones que generan calor en su interior estén directamente vinculadas a los procesos que mantienen el orden molecular. Este estrecho acoplamiento entre la producción de calor y el aumento del orden molecular es lo que diferencia el metabolismo de una célula del derroche que representa quemar combustible en una llama. Más adelante en este capítulo, se ilustrará cómo se produce este acoplamiento. Por el momento, es suficiente reconocer que, al vincular directamente la "combustión" de moléculas alimentarias con la generación de orden biológico, las células son capaces de crear y mantener una isla de orden en un universo que tiende al caos.

Los organismos fotosintéticos utilizan luz solar y sintetizan moléculas orgánicas

Todos los animales viven de la energía almacenada en los enlaces químicos de moléculas orgánicas fabricadas por otros organismos, que ingieren en forma de alimentos. Estas moléculas de los alimentos también proporcionan los átomos que los animales necesitan para elaborar nueva materia viva. Algunos animales obtienen su alimento devorando a otros animales. Sin embargo, en la base de la cadena alimentaria animal, hay animales que comen plantas u otros organismos fotosintéticos. Antes de ser consumidas, estos organismos captaron energía de la luz del sol. Así, la energía que obtienen los animales al comer plantas provino originalmente del sol (Fig. 3-7).

La energía solar se incorpora al mundo viviente por medio de la **fotosíntesis**, un proceso que convierte la energía electromagnética de la luz solar en energía de enlace químico dentro de la célula. Los organismos fotosintéticos –p. ej., plantas, algas y algunas bacterias– son capaces de obtener todos los átomos que necesitan a partir de fuentes inorgánicas. Por ejemplo, las plantas utilizan el carbono del

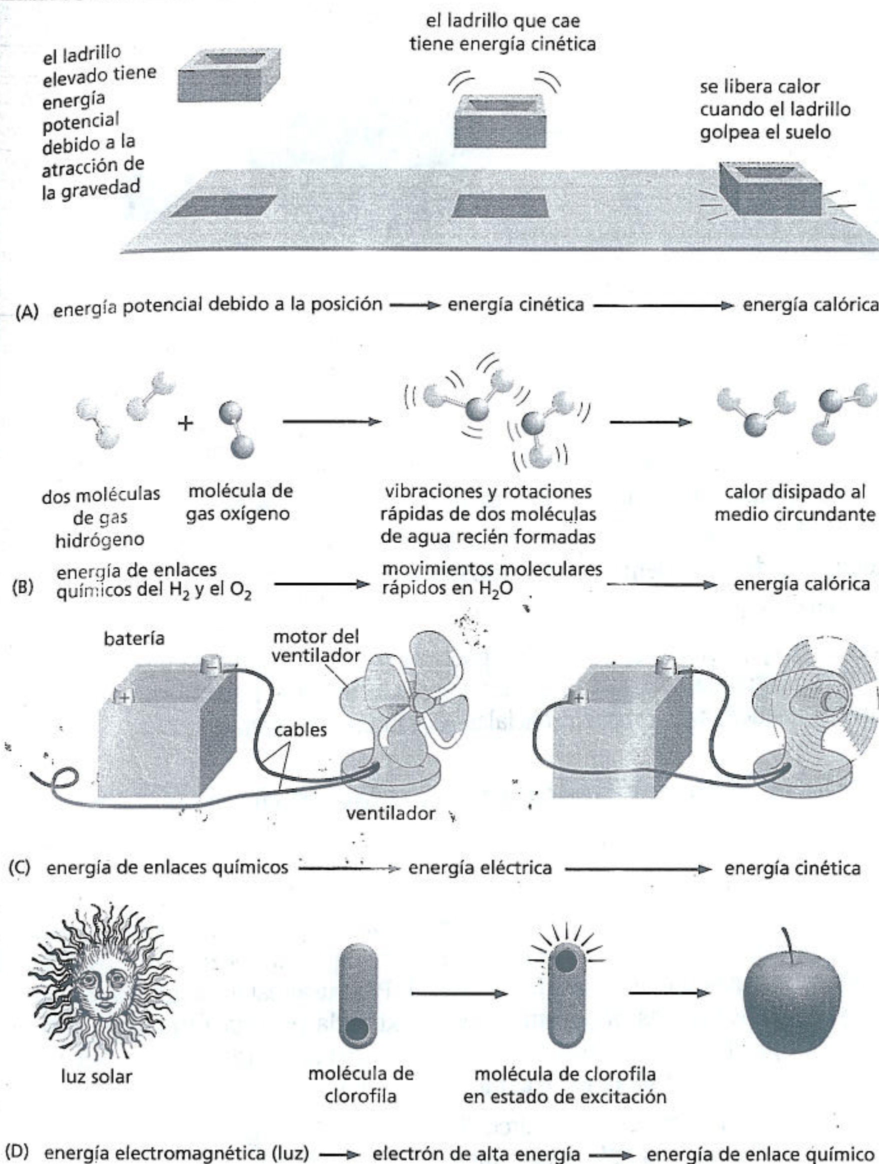


Figura 3-6. Las diferentes formas de energía son interconvertibles. La energía se puede convertir de una forma a otra, pero se debe conservar la cantidad total de energía. En (A), podemos usar la altura y el peso del ladrillo para predecir con exactitud qué cantidad de calor será liberada cuando golpee en el suelo. En (B), la gran cantidad de energía de enlaces químicos liberada cuando se forma agua se convierte inicialmente en movimientos térmicos muy rápidos de las dos nuevas moléculas de agua; sin embargo, las colisiones con otras moléculas disipan casi instantáneamente esta energía cinética en forma uniforme a los alrededores (transferencia de calor), lo que determina que las nuevas moléculas sean indistinguibles del resto. (C) Las células pueden convertir la energía de enlaces químicos en energía cinética que impulsan, por ejemplo, motores moleculares, aunque sin la conversión intermedia a energía eléctrica que exige un aparato como el ventilador. (D) Las células también pueden almacenar energía luminosa y formar enlaces químicos mediante fotosíntesis.

anhídrido carbónico atmosférico; el hidrógeno y el oxígeno, del agua; el nitrógeno, del amoníaco y los nitratos del suelo; y otros elementos que necesita en menores cantidades, de las sales inorgánicas del suelo. Usan la energía que obtienen de la luz solar formando enlaces químicos entre estos átomos, y los unen en componentes químicos pequeños, como azúcares, aminoácidos, nucleótidos y ácidos grasos. A su vez, estas moléculas pequeñas se transforman en macromoléculas –las proteínas, los ácidos nucleicos, los polisacáridos y los lípidos– que forman la planta. Todas estas sustancias son nutrientes para los animales, los hongos y para las bacterias no fotosintéticas, que más tarde consumen la planta.

Las reacciones de fotosíntesis tienen lugar en dos etapas: una que depende de la luz y otra que no (Fig. 3-8). En la primera, la etapa dependiente de la luz, se captura la energía de la luz solar y se la almacena transitoriamente como energía de enlace químico en moléculas pequeñas especializadas que transportan la energía en sus grupos químicos reactivos. (Más adelante en este capítulo, se analizarán con más detalle estas moléculas transportadoras activadas). El oxígeno molecular (gas O_2) derivado de la rotura del agua por la acción de la luz se libera como un producto secundario en esta etapa.

En la segunda etapa de la fotosíntesis, las moléculas que actúan como transportadoras de energía ayudan a impulsar el proceso de *fijación del carbono*, en el que se sintetizan azúcares a partir de anhídrido carbónico (CO_2) y agua (H_2O). Al producir azúcares, estas reacciones independientes de la luz generan una fuente



Figura 3-7. Con pocas excepciones, la energía radiante de la luz del sol mantiene toda la vida. Captada por las plantas y algunos microorganismos por el proceso de fotosíntesis, la luz del sol es, en última instancia, la fuente última de toda la energía para los seres humanos y otros animales. (*Wheat Field Behind Saint-Paul Hospital with a Reaper*, Vincent van Gogh. Cortesía del Museo Folkwang, Essen.)

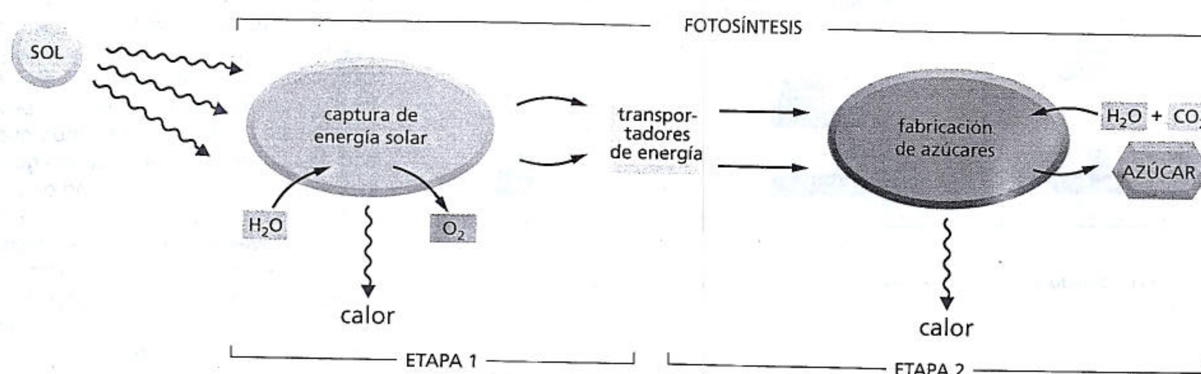
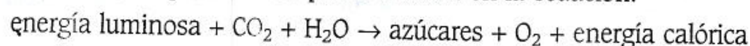


Figura 3-8. La fotosíntesis tiene lugar en dos etapas, la primera depende de la luz, y la segunda, no. Los transportadores de energía generados en la primera etapa son las dos moléculas que se considerarán: ATP y NADPH.

esencial de energía de enlace químico almacenada y de materiales, tanto para la propia planta como para los animales que la comen. En el capítulo 14, se describirán los refinados mecanismos de base de estas dos etapas de la fotosíntesis.

El resultado neto del proceso completo de la fotosíntesis, en lo que concierne a los vegetales verdes, simplemente se puede resumir en la ecuación:



$$\text{energía luminosa} + CO_2 + H_2O \rightarrow \text{azúcares} + O_2 + \text{energía calórica}$$

Los azúcares producidos se utilizan después como fuente de energía de enlace químico y como fuente de materiales para sintetizar las otras numerosas moléculas orgánicas pequeñas y grandes esenciales para la célula vegetal.

PREGUNTA 3-1

Considere la ecuación: energía luminosa + CO_2 + H_2O → azúcares + O_2 + energía calórica.
¿Esperaría que esta reacción se produjera en un solo paso? ¿Por qué se debe generar calor en esta reacción? Explique sus respuestas.

Las células obtienen energía por oxidación de moléculas orgánicas

Todas las células animales y vegetales requieren la energía química almacenada en los enlaces químicos de las moléculas orgánicas, ya sean los azúcares que la planta ha fotosintetizado como alimento para sí misma o la mezcla de moléculas grandes y pequeñas que ha ingerido un animal. Para usar esta energía para vivir, crecer y reproducirse, los organismos deben extraerla en una forma utilizable. Tanto en las plantas como en los animales, la energía se extrae de las moléculas de los alimentos por un proceso de *oxidación* gradual o combustión controlada.

La atmósfera de la Tierra contiene alrededor del 21% de oxígeno y, en presencia de oxígeno, la forma energéticamente más estable del carbono es el CO_2 y la del hidrógeno es el H_2O. Por lo tanto, una célula es capaz de obtener energía de los azúcares o de otras moléculas orgánicas permitiendo que sus átomos de carbono e hidrógeno se combinen con el oxígeno produciendo CO_2 y H_2O, proceso conocido como **respiración** celular.

La fotosíntesis y la respiración son procesos complementarios (Fig. 3-9). Esto significa que las transacciones entre las plantas y los animales no son todas unidireccionales. Las plantas, los animales y los microorganismos han existido juntos en el planeta durante tanto tiempo que muchos de ellos se han transformado en una parte esencial del medio de los otros. El oxígeno liberado durante la fotosíntesis es consumido en la combustión de moléculas orgánicas por casi todos los organismos. Y algunas de las moléculas de CO_2 que hoy están fijadas en las moléculas orgánicas por fotosíntesis en una hoja verde fueron liberadas ayer a la atmósfera por la respiración de un animal, o por la descomposición de materia orgánica muerta realizada por hongos o bacterias. Por esa razón, la utilización del carbono forma un enorme ciclo que comprende la *biosfera* (todos los organismos vivos de la Tierra) como un todo, y traspasa los límites entre organismos individuales (Fig. 3-10). De modo similar, los átomos de nitrógeno, fósforo y azufre se desplazan entre el mundo vivo y el mundo inerte en ciclos que comprenden a las plantas, los animales, los hongos y las bacterias. De hecho, se estima que los procariontes contienen casi la mitad del carbono almacenado en los organismos vivos, constituyen el reservorio aislado más grande de nitrógeno y fósforo de la Tierra, que contiene 10 veces más de estos nutrientes que las plantas.

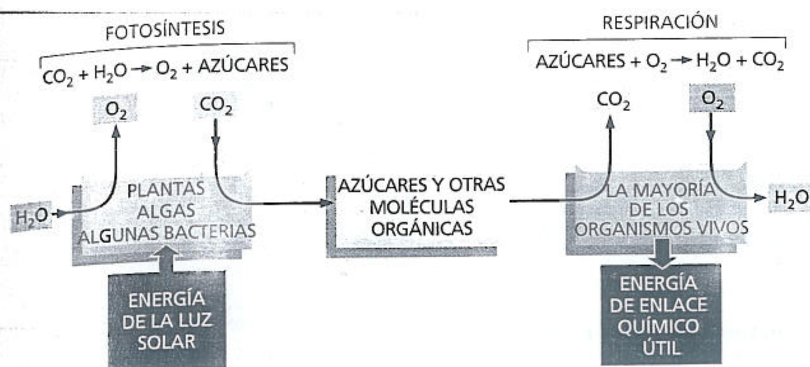


Figura 3-9. La fotosíntesis y la respiración celular son procesos complementarios en el mundo vivo. El lado *izquierdo* del diagrama muestra cómo en la fotosíntesis, realizada por las plantas y otros microorganismos fotosintéticos, se utiliza la energía de la luz solar que produce azúcares y otras moléculas orgánicas a partir de los átomos de carbono del CO_2 de la atmósfera. A su vez, estas moléculas son alimento para otros organismos. El lado *derecho* del diagrama muestra cómo la respiración celular de estos organismos usa el O_2 para oxidar moléculas de alimentos, lo que libera los mismos átomos de carbono en forma de CO_2 de nuevo a la atmósfera. En el proceso, los organismos obtienen la energía de enlaces químicos que necesitan para sobrevivir. Se piensa que las primeras células de la Tierra no eran capaces de realizar la fotosíntesis ni la respiración celular (véase Cap. 14). Sin embargo, la fotosíntesis debe haber precedido a la respiración en la Tierra, porque hay firme evidencia de que fueron necesarios miles de millones de años de fotosíntesis para que se haya liberado O_2 en cantidad suficiente de modo que se creara una atmósfera rica en este gas que sostenga el proceso de la respiración.

La oxidación y la reducción implican transferencia de electrones

La célula no oxida las moléculas orgánicas en un solo paso, como ocurre cuando el material orgánico se quema en el fuego. Por medio de catalizadores enzimáticos, el metabolismo transporta las moléculas a través de gran número de reacciones que rara vez consisten en la adición directa de oxígeno. Antes de considerar alguna de estas reacciones y su propósito, es necesario explicar qué significa oxidación.

El significado literal del término **oxidación** es adición de átomos de oxígeno a una molécula. Sin embargo, también se aplica en forma más general a cualquier reacción en la que se transfieren electrones de un átomo a otro. En este sentido, la oxidación se refiere a la eliminación de electrones, y la **reducción** –la reacción inversa– implica el agregado de electrones. Así por ejemplo, el Fe^{2+} se oxida si pierde un electrón y se transforma en Fe^{3+}, mientras que un átomo de cloro se reduce si gana un electrón y se transforma en Cl^-. Como en una reacción química el número de electrones se conserva (no hay una pérdida o ganancia neta), la oxidación y la reducción son siempre simultáneas: es decir, si en una reacción una molécula gana un electrón (reducción), una segunda molécula pierde el electrón (oxidación). Cuando una molécula de azúcar se oxida a CO_2 y H_2O, por ejemplo, las moléculas de O_2 implicadas en la formación de H_2O ganan electrones, por lo que se dice que se han reducido.

Los términos "oxidación" y "reducción" se aplican incluso cuando hay sólo un desplazamiento parcial de electrones entre átomos unidos por un enlace covalente. Cuando un átomo de carbono se une en forma covalente a otro átomo que tiene una fuerte afinidad por los electrones –el oxígeno, el cloro o el azufre, por ejemplo– cede algo más de los electrones que comparte y forma un enlace covalente polar. La carga positiva del núcleo de carbono ahora supera ligeramente la carga negativa de sus electrones: el átomo de carbono adquiere por lo tanto una carga positiva parcial ($\delta+$) y se dice que está oxidado. A la inversa, un átomo de carbono en un enlace C–H tiene algo más de los electrones que comparte; adquiere una carga negativa parcial ($\delta-$) y por ello se dice que está reducido (Fig. 3-11A).

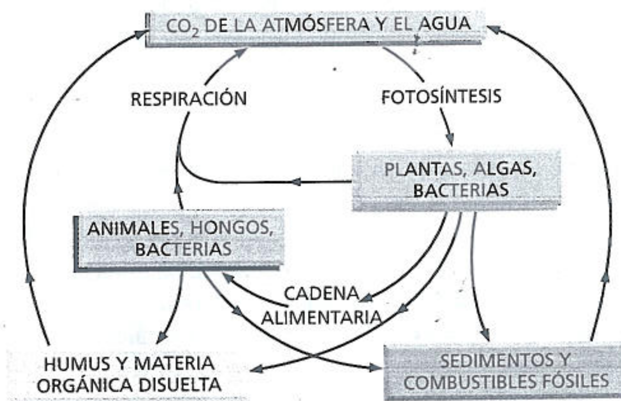


Figura 3-10. Ciclo continuo de los átomos de carbono en la biosfera. Los átomos de carbono individuales se incorporan a moléculas orgánicas del mundo vivo por la actividad fotosintética de las plantas, las algas y las bacterias. Pasan a los animales, los microorganismos y al material orgánico del suelo y los océanos mediante vías cíclicas. El CO_2 es devuelto a la atmósfera cuando las moléculas orgánicas son oxidadas por las células durante la respiración o son quemadas por los seres humanos como combustibles fósiles.

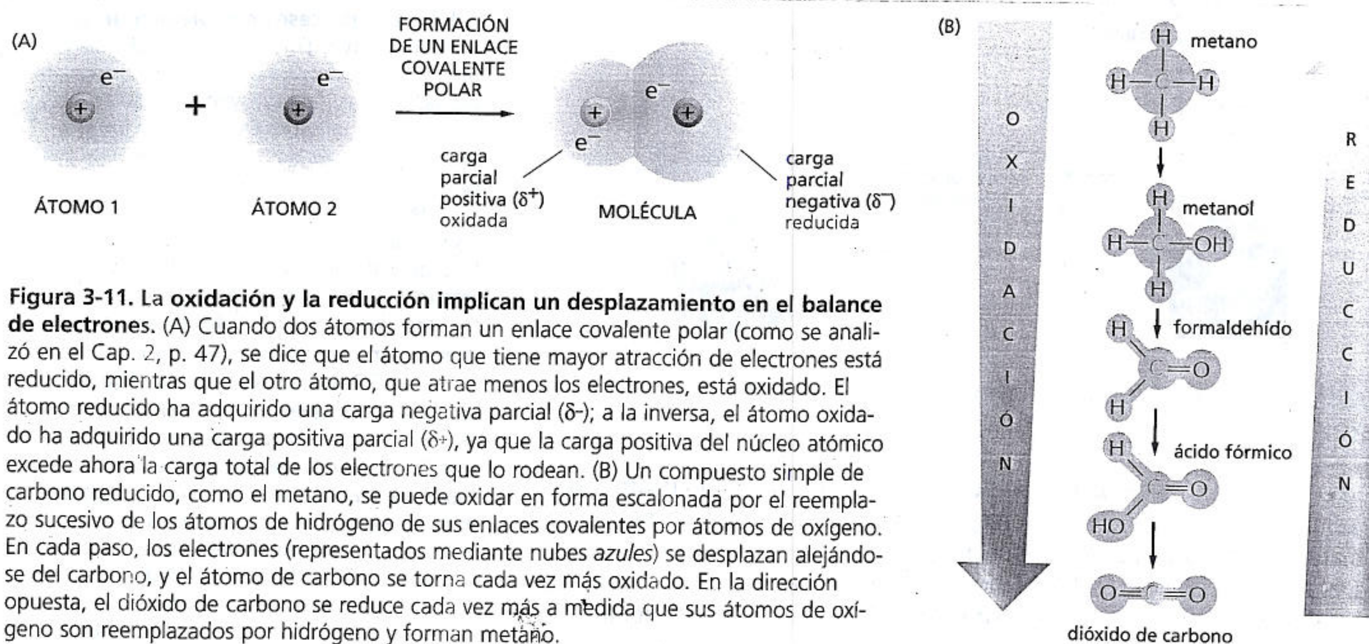
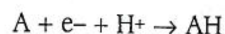


Figura 3-11. La oxidación y la reducción implican un desplazamiento en el balance de electrones. (A) Cuando dos átomos forman un enlace covalente polar (como se analizó en el Cap. 2, p. 47), se dice que el átomo que tiene mayor atracción de electrones está reducido, mientras que el otro átomo, que atrae menos los electrones, está oxidado. El átomo reducido ha adquirido una carga negativa parcial (δ-); a la inversa, el átomo oxidado ha adquirido una carga positiva parcial (δ+), ya que la carga positiva del núcleo atómico excede ahora la carga total de los electrones que lo rodean. (B) Un compuesto simple de carbono reducido, como el metano, se puede oxidar en forma escalonada por el reemplazo sucesivo de los átomos de hidrógeno de sus enlaces covalentes por átomos de oxígeno. En cada paso, los electrones (representados mediante nubes *azules*) se desplazan alejándose del carbono, y el átomo de carbono se torna cada vez más oxidado. En la dirección opuesta, el dióxido de carbono se reduce cada vez más a medida que sus átomos de oxígeno son reemplazados por hidrógeno y forman metano.

Cuando una molécula de una célula gana un electrón (e–), suele captar al mismo tiempo un protón (H+) (los protones están libremente disponibles en un medio acuoso). El efecto neto en este caso es el agregado de un átomo de hidrógeno a la molécula:



$$A + e^- + H^+ \rightarrow AH$$

Aunque estén implicados en la reacción un electrón más un protón (en lugar de sólo un electrón), estas reacciones de *hidrogenación* son reducciones, y las reacciones inversas, *deshidrogenación*, son oxidaciones. Una manera fácil de decir si una molécula orgánica se está oxidando o reduciendo consiste en contar sus enlaces C–H: éstos aumentan cuando hay reducción y disminuyen en caso de oxidación (Fig. 3-11B).

Como se verá más adelante en este capítulo, las células utilizan enzimas para catalizar la oxidación de las moléculas orgánicas en pequeños pasos, a través de una secuencia de reacciones que les permite obtener energía útil.

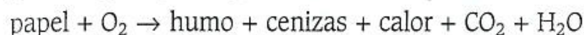
ENERGÍA LIBRE Y CATÁLISIS

Las enzimas, al igual que las células, obedecen la segunda ley de la termodinámica. Si bien pueden acelerar reacciones favorables desde el punto de vista energético –las que producen desorden en el universo– las enzimas no pueden forzar por sí mismas reacciones energéticamente desfavorables. En cambio, las células deben hacer justamente eso para crecer y dividirse: deben construir moléculas muy ordenadas y ricas en energía a partir de otras pequeñas y simples: un proceso que requiere aporte de energía.

Para comprender cómo las enzimas pueden catalizar estas reacciones energéticamente desfavorables, pero que mantienen la vida, se debe examinar primero las energías involucradas. En esta sección, se considera el modo en que la energía libre de las moléculas contribuye a sus propiedades, y el modo en que los cambios de energía libre, que reflejan cuánto desorden genera una reacción, influyen en si una reacción tiene lugar y en cómo procede. Asimismo, se analiza cómo aprovechan las enzimas las diferencias de los cambios de energía libre generando orden biológico. Pero, primero, se repasará cómo se produce la **catálisis** en forma rápida y precisa dentro de las células vivas.

Las enzimas disminuyen las barreras que bloquean las reacciones químicas

El papel se quema con facilidad, liberando a la atmósfera gases como anhídrido carbónico y vapor de agua, y energía en forma de calor:



$$\text{papel} + O_2 \rightarrow \text{humo} + \text{cenizas} + \text{calor} + CO_2 + H_2O$$

Pero esta reacción es unidireccional: el humo y las cenizas nunca volverán a unirse espontáneamente con el anhídrido carbónico y el vapor de agua de la atmósfera calentada para reconstituirse como papel. Cuando el papel se quema, su energía química se disipa en forma de calor; no desaparece del universo, ya que la energía nunca puede crearse ni destruirse, pero se dispersa de forma irrecuperable en los movimientos térmicos caóticos y aleatorios de las moléculas. Al mismo tiempo, los átomos y las moléculas del papel quedan dispersos y desordenados. En el lenguaje de la termodinámica, se ha producido una liberación de *energía libre*, es decir, energía que se puede aprovechar para hacer un trabajo o impulsar reacciones químicas. Esta pérdida de energía refleja una pérdida del ordenamiento de la manera en que la energía y las moléculas estaban dispuestas en el papel. Se analizará en más detalle el tema de la energía libre, pero el principio general se puede resumir de la siguiente manera: las reacciones químicas se producen solo en la dirección que determina una pérdida de energía libre; en otras palabras, la dirección espontánea de cualquier reacción es un camino que va "cuesta abajo". En este sentido, se dice que una reacción "cuesta abajo" es energéticamente favorable.

Aunque la forma energéticamente más favorable del carbono en condiciones normales es el CO_2 y la del hidrógeno es el H_2O, un organismo vivo no desaparece en una bocanada de humo ni el libro que tiene el lector en las manos se consume espontáneamente en las llamas. Esto se debe a que las moléculas, tanto en el organismo vivo como en el libro, están en un estado de relativa estabilidad y no pueden pasar a estados de menor energía sin un aporte inicial de energía. En otras palabras, una molécula necesita un refuerzo que supere la barrera energética, antes de que se produzca una reacción química que la lleve a un estado energético inferior, más estable (Fig. 3-12A). Este refuerzo se conoce como **energía de activación**. En el caso de un libro que se quema, la energía de activación la proporciona el calor del fósforo encendido. En el caso de las moléculas en la solución acuosa intracelular, el refuerzo depende de una colisión aleatoria inusualmente energética con las moléculas que las rodean, colisiones que se hacen más violentas a medida que asciende la temperatura.

A la temperatura de las células vivas, las proteínas especiales denominadas **enzimas** colaboran mucho con el empujón por encima de una barrera energética. Cada enzima se une estrechamente a una o dos moléculas, denominadas **sustratos**, y las mantiene de manera que reduce mucho la energía de activación necesaria para facilitar una interacción química específica entre ellas (Fig. 3-12B). Una sustancia capaz de reducir la energía de activación de una reacción se denomina **cataliza-**

PREGUNTA 3-2

¿En cuál de las siguientes reacciones se oxida el átomo *negro*?

A. Na → Na^+ (átomo de Na → ión de Na^+)
B. Cl → Cl^- (átomo de Cl → ión de Cl^-)
C. $CH_3H_2OH \rightarrow CH_3CHO$ (etanol → acetaldehído)
D. $CH_3CHO \rightarrow CH_3COOH$ (acetaldehído → ácido acético)
E. $CH_2{=}CH_2 \rightarrow CH_3CH_3$ (eteno → etano)

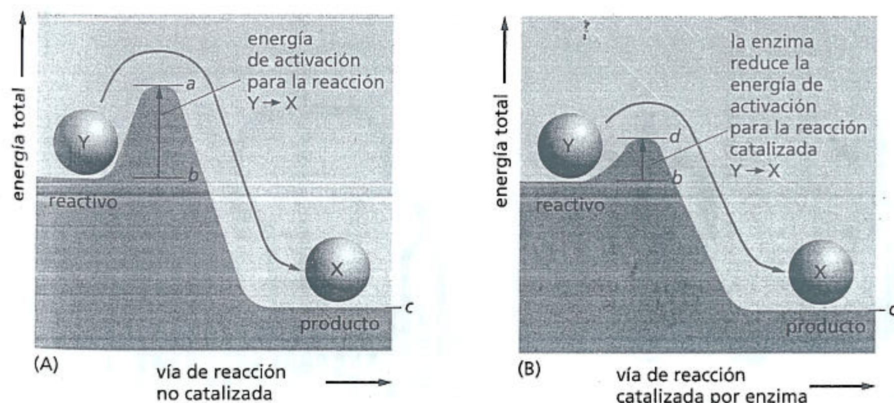


Figura 3-12. Incluso las reacciones energéticamente favorables requieren energía de activación para iniciarse. (A) El compuesto Y (un reactivo) está en un estado relativamente estable; por lo tanto, se requiere energía para transformarlo en el compuesto X (un producto), aunque X esté en un nivel de energía total inferior a Y. En consecuencia, esta transformación no se producirá, a menos que el compuesto Y adquiera suficiente energía de activación (energía ***a*** menos energía ***b***) de sus alrededores para que se produzca la reacción que lo transformará en el compuesto X. Esta energía puede provenir de una colisión energética no habitual con otras moléculas. Para la reacción inversa, X → Y, la energía de activación será mucho mayor (energía ***a*** menos energía ***c***); por lo tanto esta reacción se producirá con mucho menos frecuencia. Las energías de activación siempre son positivas. El cambio de energía total para la reacción energéticamente favorable X → Y es energía ***c*** menos energía ***b***, un número negativo. (B) Las barreras energéticas para reacciones específicas pueden ser disminuidas mediante catalizadores, porque reducen mucho la energía de activación de las reacciones que catalizan.

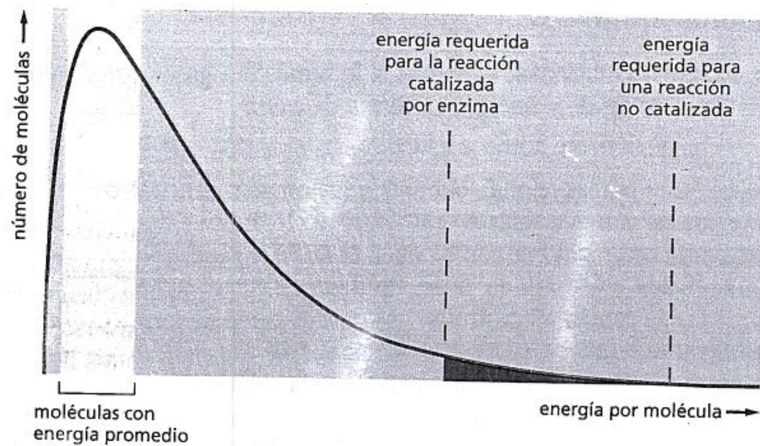
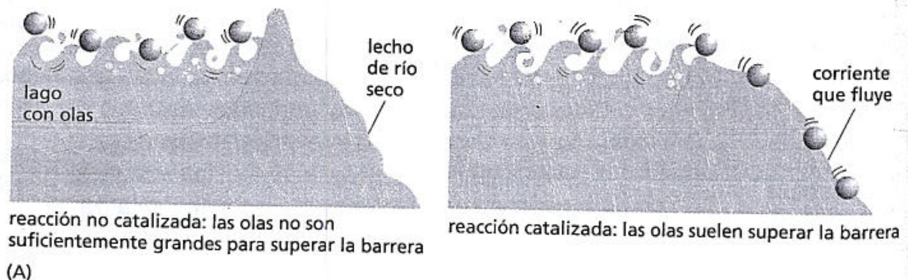


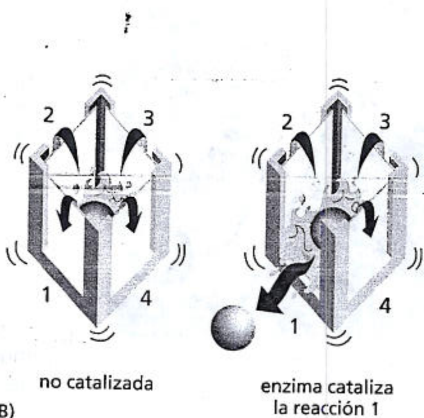
Figura 3-13. Reducir mucho la energía de activación aumenta la probabilidad de que se produzca una reacción. En cualquier instante dado, una población de moléculas idénticas de sustrato tendrá un intervalo de energías distribuido como se muestra en el gráfico. Las variaciones de energía provienen de las colisiones con las moléculas del medio ambiente, que hacen que las moléculas de sustrato salten, vibren y giren. Para que una molécula sufra una reacción química, la energía de la molécula debe superar la barrera de la energía de activación para esa reacción (*líneas interrumpidas*); en la mayoría de las reacciones biológicas, esto casi nunca sucede sin la catálisis enzimática. Aun con catálisis enzimática, sólo una pequeña fracción de moléculas de sustrato alcanza un estado de energía lo bastante alto para sufrir una reacción (área *roja sombreada*).

dor; éste aumenta la velocidad de las reacciones químicas porque permite una proporción mucho mayor de colisiones aleatorias con las moléculas vecinas para impulsar a los sustratos por encima de la barrera energética, como se ilustra en las figuras 3-13 y 3-14A. Las enzimas se encuentran entre los catalizadores más eficaces que se conocen, ya que suelen acelerar las reacciones por un factor de hasta 10^{14} (es decir, miles de millones de veces más rápidas que si las mismas reacciones ocurrieran sin un catalizador enzimático). Por lo tanto, posibilitan que se produzcan reacciones que no se producirían rápidamente a temperaturas normales. Sin las enzimas, la vida no podría existir.

Las enzimas también son muy selectivas. Cada enzima suele acelerar sólo una reacción específica de las varias reacciones posibles que se podrían producir con sus moléculas de sustrato. De esta manera, las enzimas dirigen a cada una de las diferentes moléculas de una célula por vías de reacción específicas (Figs. 3-14B y C), lo que produce los compuestos que la célula necesita.

El éxito de los organismos vivos se puede atribuir a la capacidad de la célula de fabricar enzimas de numerosos tipos, cada una de las cuales posee propiedades específicas precisas. Cada enzima tiene una forma única, con un *sitio activo*, un surco de su estructura en el cual encajan sólo determinados sustratos (Fig. 3-15).





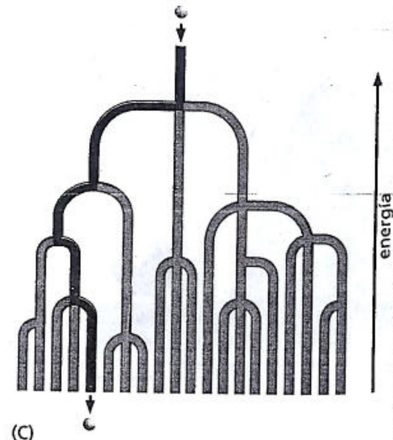


Figura 3-14. Las enzimas catalizan las reacciones disminuyendo la barrera de la energía de activación. (A) El dique representa la energía de activación, cuya altura disminuye por la catálisis enzimática. La *bola verde* representa un posible sustrato que se desplaza hacia arriba y hacia abajo en su nivel energético, debido a los constantes encuentros con las olas, una analogía del bombardeo térmico del sustrato por la acción de las moléculas de agua circundantes. Cuando la barrera –la energía de activación– disminuye de manera significativa, las bolas (sustratos) con suficiente energía pueden rodar cuesta abajo, un movimiento energéticamente favorable. (B) Las cuatro paredes de la caja representan las barreras de la energía de activación para cuatro reacciones químicas diferentes, todas energéticamente favorables porque los productos están a un nivel energético inferior que los sustratos. En la caja de la izquierda, no se produce ninguna reacción ya que ni siquiera las olas más grandes tienen tamaño suficiente para sobrepasar alguna de las barreras energéticas. En la caja de la derecha, la catálisis enzimática disminuye la energía de activación sólo para la reacción número 1; ahora, el empuje de las olas permite el pasaje de la molécula por encima de esta barrera energética, lo que induce la reacción 1 (Película 3.1). (C) Un río ramificado con un conjunto de barreras o diques (rectángulos *amarillos*) sirve para ilustrar cómo una serie de reacciones catalizadas por enzimas determinan la vía de reacción exacta seguida por cada molécula en el interior de la célula al controlar específicamente qué reacción será permitida en cada cruce.

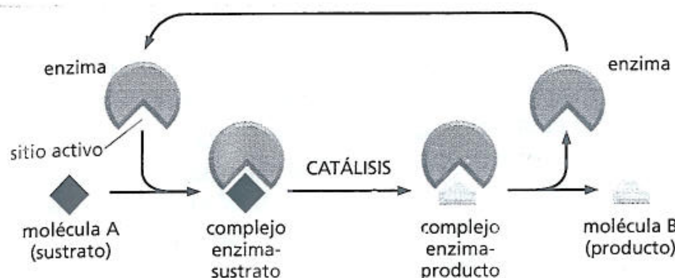


Figura 3-15. Las enzimas transforman los sustratos en productos sin modificarse ellas mismas. Cada enzima tiene un sitio activo al que se une una o dos moléculas de sustrato, lo que forma un complejo enzima-sustrato. En el sitio activo, se produce una reacción, que genera un complejo enzima-producto. Después, el producto es liberado, lo que permite que la enzima se una a otras moléculas de sustrato y repita la reacción.

Como todos los demás catalizadores, las propias moléculas enzimáticas permanecen sin cambios después de participar en una reacción, y por lo tanto, pueden actuar una y otra vez. En el capítulo 4, se analizará con más profundidad el mecanismo de acción de las enzimas, después de haber considerado en detalle la estructura molecular de las proteínas.

La variación de energía libre de una reacción determina si esta reacción puede producirse

De acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, una reacción química se puede producir sólo si el resultado es un aumento neto (o global) del desorden del universo (véase Fig. 3-5). El desorden se incrementa cuando la energía útil que puede ser aprovechada para realizar trabajo se disipa en forma de calor. El aumento del desorden se puede expresar mejor mediante el concepto de **energía libre**, G, de un sistema. El valor de G es de máximo interés cuando hay una variación en el sistema, de manera que el término empleado con más frecuencia es **cambio de energía** libre, denominado ΔG ("delta G"). Supóngase que el sistema en consideración es un conjunto de moléculas. Dada la manera en la que se ha definido la energía libre, ΔG mide el grado de desorden generado en el universo cuando se produce una reacción en la que participan estas moléculas. Por definición, las reacciones energéticamente favorables son aquellas que generan desorden disminuyendo la energía libre del sistema al que pertenecen, en otras palabras, tienen una ΔG *negativa* (Fig. 3-16).

Sólo puede haber una reacción espontánea si ΔG es negativa. En una escala macroscópica, un ejemplo familiar de una reacción energéticamente favorable es la "reacción" por la cual un resorte comprimido se relaja hacia un estado de expansión y libera la energía elástica almacenada en forma de calor a las inmediaciones; un ejemplo en escala microscópica es la disolución de sal en agua. Por el contrario, las reacciones *energéticamente desfavorables*, con una ΔG positiva –como aquellas en las que dos aminoácidos se unen y forman un enlace peptídico– generan orden en el universo. Estas reacciones no se pueden producir en forma espontánea; sólo pueden tener lugar si están acopladas a una reacción con una ΔG negativa tan alta que la ΔG neta del proceso completo sea negativa (Fig. 3-17). Estos conceptos cruciales se resumen, con ejemplos, en la lámina 3-1 (pp. 94-95).

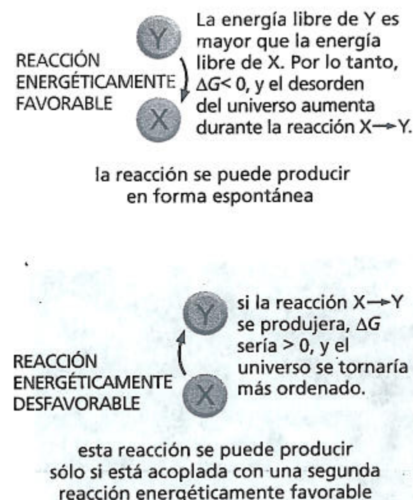
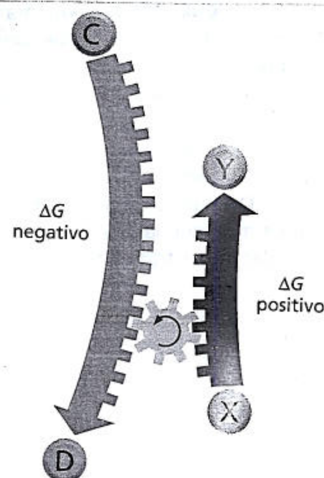


Figura 3-16. Las reacciones energéticamente favorables tienen una ΔG negativa y las reacciones energéticamente desfavorables tienen una ΔG positiva. Las reacciones energéticamente favorables también se denominan reacciones exergónicas, porque causan una liberación neta de energía. Las reacciones energéticamente desfavorables también se denominan reacciones endergónicas porque deben obtener energía libre de su medio circundante para producirse.

La concentración de los reactivos influye en la variación de energía libre y en la dirección de una reacción

Como acabamos de describir, una reacción Y D X se producirá en la dirección Y → X cuando el cambio de energía libre asociado, ΔG, sea negativo, como ocurre en el caso de un resorte comprimido, que abandonado a sí mismo, se relajará y perderá su energía almacenada hacia el medio circundante en forma de calor. Sin embargo, en una reacción química, ΔG depende no sólo de la energía almacenada en cada molécula, sino también de la concentración de las moléculas en la mezcla de reacción. Hay que recordar que ΔG refleja el grado en el cual una reacción genera un estado del universo más desordenado; en otras palabras, un estado más probable. Si se vuelve a la analogía con las monedas, es muy probable



la reacción energéticamente desfavorable X→Y es impulsada por la reacción energéticamente favorable C→D, porque el cambio de energía libre neto de este par de reacciones acopladas es menor de cero.

Figura 3-17. El acoplamiento de reacciones puede impulsar una reacción energéticamente desfavorable. La reacción energéticamente desfavorable ($\Delta G > 0$) X → Y no puede tener lugar, a menos que se acople a una reacción energéticamente favorable ($\Delta G < 0$) C → D, de manera que el cambio de energía libre neto de las reacciones acopladas sea negativo (menor de cero).

que más monedas de la caja sacudida se den vuelta de cara a ceca si la caja contiene 90 caras y 10 cecas, que si la caja contiene 10 caras y 90 cecas.

Lo mismo es válido para una reacción química. En la reacción reversible Y D X, un gran exceso de Y respecto de X tenderá a impulsar la reacción en el sentido Y → X; es decir, habrá una tendencia a que la cantidad de moléculas que realizan la transición Y → X sea mayor que las que realizan la transición X → Y. Así, a medida que aumenta la relación Y-X, ΔG se vuelve más negativa para la transición Y → X (y más positiva para la transición X → Y).

El cambio de energía libre estándar posibilita comparar las energías de diferentes reacciones

Como ΔG depende de las concentraciones de las moléculas de la muestra de reacción en un momento dado, no es un valor que tenga particular utilidad para comparar las energías relativas de diferentes tipos de reacciones. Estas comparaciones se necesitan, por ejemplo, para predecir si es probable que una reacción energéticamente favorable tenga un ΔG lo bastante negativo para impulsar una reacción energéticamente desfavorable. Para nivelar el campo de juego y colocar las reacciones sobre una base comparable, se debe considerar el *cambio de energía libre estándar*, $\Delta G°$, de una reacción. $\Delta G°$ es independiente de la concentración; sólo depende de las características intrínsecas de las moléculas que reaccionan y se basa en su comportamiento en condiciones ideales donde las concentraciones de todos los reactivos están regulados al mismo valor fijo de 1 mol/litro.

Para una reacción simple Y → X a 37°C, $\Delta G°$ está relacionada con ΔG de la siguiente manera:

$$\Delta G = \Delta G° + RT \ln \frac{[X]}{[Y]}$$

donde ΔG se expresa en kilocalorías por mol, [Y] y [X] representan las concentraciones de Y y de X, ln es el logaritmo natural y RT es el producto de la constante del gas, R, y la temperatura absoluta, T. A 37°C, $RT = 0{,}616$. (Un mol equivale a 6×10^{23} moléculas de una sustancia).

Se ha reunido una gran cantidad de información termodinámica a partir de la cual se puede calcular $\Delta G°$ para la mayoría de las reacciones metabólicas. Algunas reacciones comunes se comparan en términos de su $\Delta G°$ en la lámina 3-1 (pp. 94-95).

Las células existen en un estado de desequilibrio químico

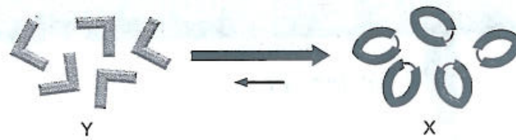
A partir de la ecuación previa, se puede observar que el valor de ΔG es igual al de $\Delta G°$ cuando las concentraciones molares de Y y de X son iguales, es decir [X]/[Y] = 1, porque ln 1 = 0. Pero a medida que procede la reacción favorable Y → X, la concentración del producto X aumenta y la concentración del sustrato Y disminuye. Esta modificación de las concentraciones relativas determina que [X]/[Y] aumente, lo que vuelve cada vez más negativo el ΔG que al principio era favorable (el logaritmo natural es positivo para un número mayor de 1 y negativo para un número menor de 1).

Por lo general, las reacciones químicas prosiguen hasta que alcanzan un estado de **equilibrio**. En ese punto, las velocidades de las reacciones anterógradas e inversas son iguales, y ya no hay más cambio neto de las concentraciones de sustrato ni de producto (Fig. 3.18). En las reacciones en equilibrio químico, $\Delta G = 0$, de manera que la reacción no se producirá en una ni otra dirección, y no se podrá realizar ningún trabajo. Como el mantenimiento del orden dentro de la célula exige un aporte continuo de energía, cualquier célula en la que todas sus reacciones hayan alcanzado el equilibrio químico está muerta.

Las células vivas no alcanzan un estado de equilibrio porque están intercambiando materiales con su medio en forma constante: tomando nutrientes y eliminando productos de desecho. Muchas de las reacciones individuales de la compleja red

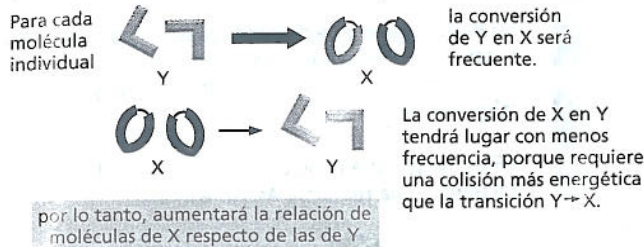
PREGUNTA 3-3

Considere la analogía de la caja que contiene las monedas descrita en la página 83. La reacción, el cambio de la posición de las monedas que quedan de cara (H) o ceca (T), se describe con la ecuación H H ⇌ T, donde la velocidad de la reacción anterógrada es igual a la velocidad de la reacción inversa.
A. ¿Cuáles son los valores de ΔG y $\Delta G°$ en esta analogía?
B. ¿Qué corresponde a la temperatura a la que se produce la reacción? ¿Qué corresponde a la energía de activación de la reacción? Suponga que tenemos una "enzima" llamada agitasa que cataliza esta reacción. ¿Cuál sería el efecto de la agitasa y qué podría hacer esta enzima, desde el punto de vista mecánico, en la analogía planteada?

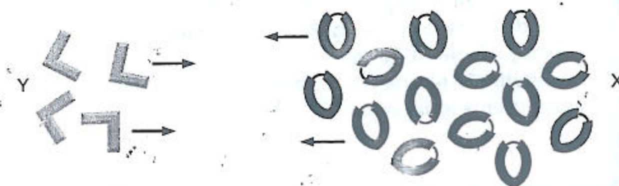


En este ejemplo, la formación de X está energéticamente favorecida. En otras palabras, el ΔG de Y→X es negativo, y el ΔG de X→Y es positivo. Pero debido a los bombardeos térmicos, siempre habrá algo de X que se convierte en Y, y viceversa.

SUPONGA QUE LA REACCIÓN SE INICIA CON UNA CANTIDAD IGUAL DE MOLÉCULAS DE "Y" Y DE "X"



CON EL TIEMPO, habrá un exceso suficientemente grande de X respecto de Y para compensar la lenta velocidad de X→Y. Entonces, se habrá alcanzado el equilibrio.



EN EQUILIBRIO, la cantidad de moléculas de Y que se convierten en moléculas de X por segundo es exactamente igual a la cantidad de moléculas de X que se convierten en moléculas de Y por segundo, de manera que no hay ningún cambio neto de la relación X/Y. En equilibrio, el ΔG es cero.

Figura 3-18. Las reacciones alcanzan finalmente un equilibrio químico. En ese punto, los flujos anterógrado y retrógrado de las moléculas que reaccionan son iguales y opuestos.

metabólica de la célula se mantienen en desequilibrio porque los productos de una reacción son extraídos continuamente actuando como sustrato en una reacción ulterior. Rara vez, los productos y los sustratos alcanzan concentraciones en las que las velocidades de la reacción anterógrada e inversa son iguales.

La constante de equilibrio es directamente proporcional a $\Delta G°$

Como se ha visto, cuando se alcanza el equilibrio químico, las velocidades de la reacción anterógrada e inversa son iguales y la relación del sustrato con el producto permanece constante. Este estado permite calcular la **constante de equilibrio** ***K***, de una reacción:

$$K = \frac{[X]}{[Y]}$$

donde [X] es la concentración del producto e [Y] es la concentración del reactivo en equilibrio. Esta expresión define el punto en el que el efecto de la concentración se equilibra exactamente con el empuje aportado a la reacción por $\Delta G°$, de manera que $\Delta G = 0$ y no hay cambio neto de la energía libre que impulse a la reacción en cualquiera de las dos direcciones (véase Lámina 3-1, p. 95).

Así, como

$$\Delta G = \Delta G° + RT \ln \frac{[X]}{[Y]},$$

(como se mencionó en la p. 92), en estado de equilibrio a 37°C, donde $\Delta G = 0$ y $RT = 0{,}616$, la ecuación se transforma en la siguiente:

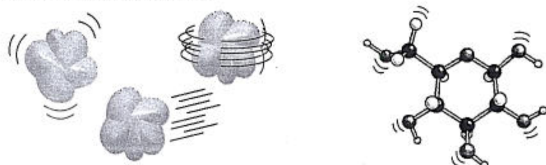
$$\Delta G° = -0{,}616 \ln \frac{[X]}{[Y]}$$

LÁMINA 3-1 Energía libre y reacciones biológicas

ENERGÍA LIBRE

Esta lámina repasa el concepto de energía libre y ofrece ejemplos que muestran cómo los cambios de energía libre determinan si se producen las reacciones biológicas y cómo lo hacen.

Las moléculas de una célula viva tienen energía debido a sus vibraciones, rotaciones y movimiento a través del espacio, y debido a la energía que se almacena en los enlaces entre átomos individuales.

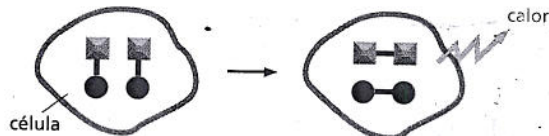


La energía libre, G (en Kcal/mol), mide la energía de una molécula que, en principio, se podría utilizar para realizar trabajo útil a temperatura constante, como en una célula viva. La energía también se puede expresar en joules (1 cal = 4,184 joules).

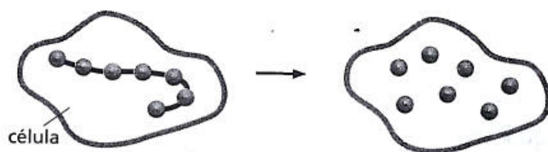
LAS REACCIONES CAUSAN DESORDEN

Piense en una reacción química que se produce en una célula aislada con temperatura y volumen constantes. Esta reacción puede generar desorden de dos maneras.

1 Los cambios de energía de los enlaces de las moléculas que reaccionan pueden inducir la liberación de calor, lo que desordena el medio.

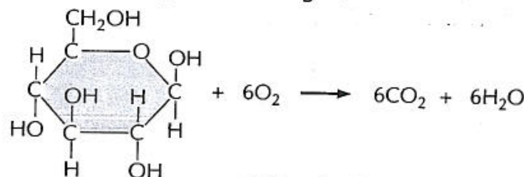


2 La reacción puede reducir el grado de orden de las moléculas que reaccionan: p. ej., al separar una cadena larga de moléculas o al alterar una interacción que impide las rotaciones de los enlaces.



VELOCIDADES DE REACCIÓN

Una reacción espontánea no es necesariamente una reacción instantánea: una reacción con un cambio de energía libre (ΔG) negativo no tiene por qué producirse con rapidez por sí misma. Para la combustión de glucosa en oxígeno:



$$\Delta G^{\circ} = -686 \text{ kcal/mol}$$

Pero aun esta reacción muy favorable puede no ocurrir durante siglos, a menos que haya enzimas que aceleran el proceso. Las enzimas pueden catalizar reacciones y acelerar su velocidad, pero no cambian el ΔG° de la reacción.

ΔG ("DELTA G")

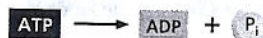
Los cambios de energía libre que se producen en una reacción se indican por ΔG, donde "Δ" denota una diferencia. Así, para la reacción:



ΔG = energía libre (C + D) menos energía libre (A + B)

ΔG mide el grado de desorden causado por una reacción: el cambio del orden dentro de la célula más el cambio del orden de su ambiente circundante causado por el calor liberado.

ΔG es útil porque mide cuán lejos del equilibrio se encuentra una reacción. Así, la reacción:



Tiene un ΔG negativo grande, porque la célula la mantiene muy alejada del equilibrio fabricando nuevo ATP de manera continua. En cambio, si la célula muere, la mayoría de su ATP es hidrolizado hasta que se alcanza el equilibrio (las reacciones anterógrada y retrógrada se producen a igual velocidad) y $\Delta G = 0$.

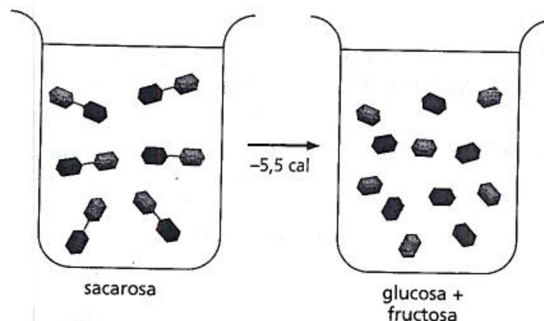
REACCIONES ESPONTÁNEAS

Por la segunda ley de la termodinámica, se sabe que el desorden del universo sólo puede aumentar. ΔG es *negativo* si el trastorno del universo (reacción más alrededores) *aumenta*.

En otras palabras, una reacción química espontánea debe tener un ΔG negativo:

$$G_{productos} - G_{reactivos} = \Delta G < 0$$

EJEMPLO: la diferencia de energía libre de 100 mL de 10 mM de sacarosa (azúcar común) y 100 mL de 10 mM de glucosa más 10 mM de fructosa es de alrededor de −5,5 calorías. Por lo tanto, la reacción de hidrólisis (sacarosa → glucosa + fructosa) se puede producir en forma espontánea.



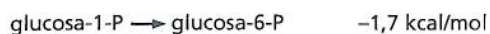
En cambio, la reacción inversa (glucosa + fructosa → sacarosa), que tiene un ΔG of +5,5 calorías, no podría tener lugar sin un aporte de energía de una reacción acoplada.

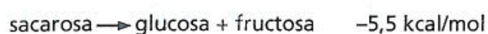
PREDICCIÓN DE REACCIONES

Para predecir el resultado de una reacción (¿Se producirá hacia la derecha o hacia la izquierda? ¿En qué punto se detendrá?), se debe medir su cambio de energía libre estándar ($\Delta G°$). Esta cantidad representa la ganancia o la pérdida de energía libre cuando un mol de reactivo es convertido en un mol de producto en "condiciones estándares" (todas las moléculas presentes en una concentración de 1 M y a pH 7,0).

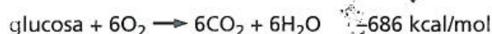
$\Delta G°$ de algunas reacciones

fuerza impulsora



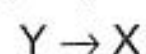




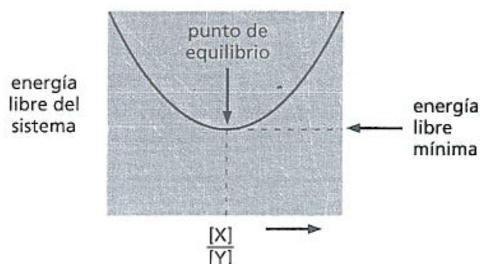


EQUILIBRIOS QUÍMICOS

Hay una relación fija entre el cambio de energía libre estándar de una reacción, $\Delta G°$, y su constante de equlibrio, *K*. Por ejemplo, la reacción reversible



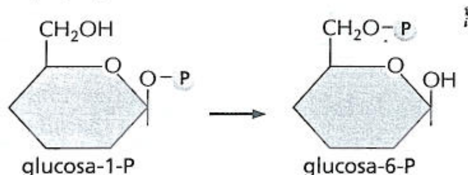
Procederá hasta que la relación de concentraciones [X]/[Y] sea igual a K (nota: los corchetes [] indican concentración). En este punto, la energía libre del sistema tendrá su valor mínimo.



A 37°C, $\Delta G° = -1{,}42 \log_{10} K$ (véase texto, p. 96)

$K = 10^{-\Delta G°/1{,}42}$

Por ejemplo, la reacción



tiene $\Delta G° = -1{,}74$ kcal/mol. Por lo tanto, su constante de equilibrio $K = 10^{(1{,}74/1{,}42)} = 10^{(1{,}23)} = 17$

Así, la reacción alcanzará el estado de equilibrio cuando

[glucosa-6-P]/[glucosa-1-P] = 17

REACCIONES ACOPLADAS

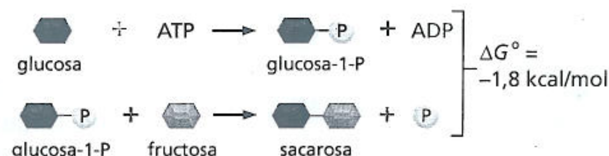
Las reacciones se pueden "acoplar" si comparten uno o más intermediarios. En este caso, el cambio de energía libre global es simplemente la suma de los valores individuales de $\Delta G°$. Una reacción que es desfavorable (tiene un $\Delta G°$ positivo) puede, por esta razón, ser impulsada por una segunda reacción altamente favorable.

REACCIÓN AISLADA



RESULTADO NETO: ¡no se producirá!

REACCIÓN ACOPLADA

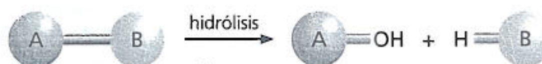




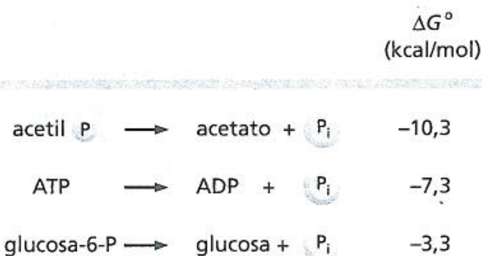
RESULTADO NETO: se fabrica sacarosa en una reacción impulsada por la hidrólisis de ATP.

ENLACES DE ALTA ENERGÍA

Una de las reacciones más comunes en la célula es la hidrólisis, en la que se separa un enlace covalente agregando agua.



El $\Delta G°$ para esta rezacción recibe, en ocasiones , el nombre de "energía de enlace". Se dice que los compuestos como el acetil fosfato y el ATP, que tienen un gran $\Delta G°$ negativo de endiólisis tienen un enlace de "alta energía"



		$\Delta G°$ (kcal/mol)
acetil P	→ acetato + P_i	–10,3
ATP	→ ADP + P_i	–7,3
glucosa-6-P	→ glucosa + P_i	–3,3

(Observe que, por razones de simplicidad, se ha omitido el agua en las ecuaciones anteriores).

CUADRO 3-1. RELACIONES ENTRE EL CAMBIO DE ENERGÍA LIBRE ESTÁNDAR, $\Delta G°$, Y LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO

CONSTANTE DE EQUILIBRIO $\frac{[X]}{[Y]}$	ENERGÍA LIBRE DE X MENOS ENERGÍA LIBRE DE Y en kcal/mol
10^5	−7,1
10^4	−5,7
10^3	−4,3
10^2	−2,8
10	−1,4
1	0
10^{-1}	1,4
10^{-2}	2,8
10^{-3}	4,3
10^{-4}	5,7
10^{-5}	7,1

Los valores de la constante de equilibrio se calcularon para una reacción química simple Y D X utilizando la ecuación mencionada en el texto.

Los valores de $\Delta G°$ se expresan en kilocalorías por mol a 37°C. Como se explica en el texto, $\Delta G°$ representa la diferencia de energía libre en condiciones estándares (cuando todos los componentes están presentes en una concentración de 1,0 mol/litro).

En este cuadro, se observa que si se produce una variación de energía libre favorable de −4,3 kcal/mol para la transición Y → X, habrá 1.000 veces más moléculas en estado X que en estado Y.

o

$$\Delta G° = -0{,}616 \ln K$$

Al convertir esta ecuación del logaritmo natural (ln) al logaritmo en base 10 (log) usado con más frecuencia, se obtiene

$$\Delta G° = -1{,}42 \log K$$

Esta ecuación revela cómo la relación de equilibrio de Y respecto de X (expresada como constante de equilibrio, K) depende del carácter intrínseco de las moléculas, expresadas en el valor de $\Delta G°$ (cuadro 3-1). Obsérvese que para cada diferencia de 1,42 kcal/mol de energía libre a 37°C, la constante de equilibrio cambia por un factor de 10. Así, cuanto más energéticamente favorable es la reacción, más producto se acumulará si la reacción prosigue hasta el equilibrio.

En relaciones complejas, la constante de equilibrio depende de las concentraciones de todos los reactivos y los productos

Hasta ahora, se ha visto la más sencilla de las reacciones, Y → X, en la cual un único sustrato se transforma en un solo producto. Pero ¿qué sucede en la situación más común, en la que dos reactivos se combinan y forman un único producto, A + B $\rightleftharpoons$ AB?

Se aplican los mismos principios, excepto que ahora la constante de equilibrio, K, depende de las concentraciones de ambos reactivos, además de la del producto:

$$K = [AB]/[A]\ [B]$$

Las concentraciones de ambos sustratos se multiplican porque la formación del producto AB depende de la colisión de A con B, y estos encuentros se producen a una velocidad que es proporcional a [A] × [B]. Al igual que en las reacciones de un solo sustrato, $\Delta G° = -1{,}42 \log K$ a 37°C.

La constante de equilibrio indica la fuerza de las interacciones moleculares

El concepto de cambio de energía libre no sólo se aplica a las reacciones químicas en las que se rompen y se forman enlaces covalentes, sino también a las interacciones en las que una molécula se une a otra mediante enlaces no covalentes (véase capítulo 2, pp. 62-63). Estos tipos de interacciones son sumamente importantes para las células. Comprenden la unión de sustratos con enzimas, la unión de proteínas reguladoras de genes con el DNA y la unión de una proteína con otra formando los innumerables complejos proteicos diferentes desde los puntos de vista estructural y funcional que constituyen una célula viva.

Dos moléculas se unirán entre sí si el $\Delta G°$ de la interacción es negativo; es decir, la energía libre del complejo resultante es más baja que la suma de las energías libres de los dos componentes cuando no estaban unidos. Como la constante de equilibrio de una reacción está directamente relacionada con el cambio de energía libre estándar ($\Delta G°$), K se suele emplear como una medida de la fuerza de unión de una interacción no covalente entre dos moléculas. Es muy útil conocer este valor, ya que también indica la especificidad de las interacciones entre las dos moléculas.

Considere la reacción que se muestra en la figura 3-19, donde una molécula A interactúa con una molécula B formando el complejo AB. La reacción se produce hasta que alcanza el equilibrio, punto en el cual el número de asociaciones iguala exactamente al número de disociaciones; en este punto, se pueden utilizar las concentraciones de los reactivos y del complejo AB para determinar la constante de equilibrio.

K aumenta a medida que lo hace la *energía de unión*, es decir la energía liberada en la interacción de unión. En otras palabras, cuanto mayor sea K, mayor será la caída de energía libre entre los estados disociados y asociados, y más estrecha será

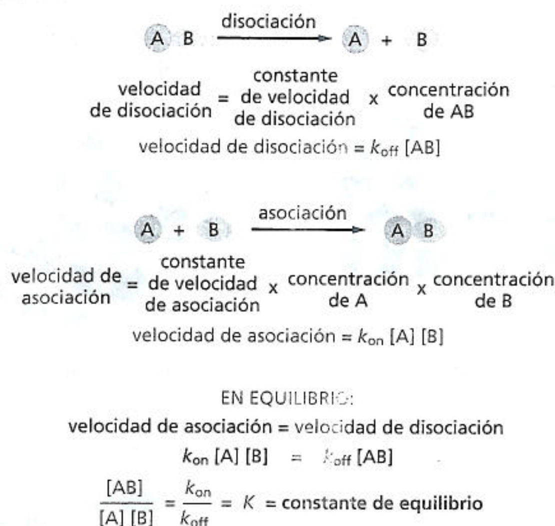
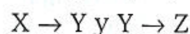


Figura 3-19. Las interacciones de la energía de enlace se reflejan en la constante de equilibrio. El equilibrio entre las moléculas A y B y el complejo AB se mantiene por el balance entre las dos reacciones opuestas mostradas. Las moléculas A y B deben chocar para interactuar, y por lo tanto, la velocidad de asociación es proporcional al producto de sus concentraciones individuales [A] ×[B]. Como se muestra, la relación de las constantes de velocidad k_{on} y k_{off} de las reacciones de asociación y de disociación es igual a la constante de equilibrio (K) de la interacción. Para dos componentes que interactúan, K implica las concentraciones de ambos sustratos además de la del producto. Sin embargo, la relación entre K y $\Delta G°$ es igual a la que se muestra en el cuadro 3-1. Cuanto mayor es el valor de K, más fuerte es la unión entre A y B.

la unión entre las dos moléculas. Incluso la modificación de algunos enlaces covalentes puede tener un efecto llamativo sobre la interacción de unión, como se ilustra en la figura 3-20. En este ejemplo, la eliminación de unos pocos enlaces de hidrógeno de una interacción de unión produce un descenso sustancial de la cantidad de complejo que existe en el equilibrio.

En las reacciones secuenciales, los cambios de energía libre son aditivos

Ahora, se volverá a nuestro interés original, ¿cómo pueden catalizar las enzimas reacciones que son energéticamente desfavorables? Una manera de hacerlo consiste en acoplar directamente una reacción energéticamente desfavorable con una energéticamente favorable. Considere por ejemplo dos reacciones secuenciales:



donde los valores de $\Delta G°$ son +5 y −13 kcal/mol, respectivamente. (Recuerde que un mol es 6×10^{23} moléculas de una sustancia). La reacción desfavorable $X \rightarrow Y$ no se producirá en forma espontánea. Sin embargo, puede ser impulsada por la reacción favorable Y Z, siempre que esta segunda reacción siga a la primera. Esto se debe a que el cambio de energía libre global de una reacción acoplada es igual a la suma de los cambios de energía libre de cada paso individual. En este caso, $\Delta G°$ de la reacción acoplada será de -8 kcal/mol, lo que vuelve energéticamente favorable a la vía global.

Por tanto, las células pueden hacer que una transición energéticamente desfavorable, $X \rightarrow Y$ se produzca siempre que la enzima que cataliza la reacción $X \rightarrow Y$ esté suplementada por una segunda enzima que cataliza la reacción energéticamente favorable $Y \rightarrow Z$. En efecto, la reacción $Y \rightarrow Z$ actúa como un "sifón", que arrastra la transformación de todas las moléculas X en moléculas Y y luego en moléculas Z (Fig. 3-21). Por ejemplo, varias de las reacciones en el largo camino que transforma los azúcares en CO_2 y H_2O son energéticamente desfavorables. Sin embargo, la vía metabólica prosigue con rapidez hasta el final, porque el $\Delta G°$ total de la serie de reacciones secuenciales tiene un valor negativo grande.

Sin embargo, formar una vía metabólica secuencial no es la solución para todas las necesidades metabólicas. Con frecuencia, la reacción deseada es simplemente $X \rightarrow Y$, sin transformación adicional de Y en ningún otro producto. Por fortuna, hay otras maneras más generales de utilizar enzimas para acoplar reacciones, que implican la producción de moléculas transportadoras activadas que pueden transferir la energía de un sitio de reacción a otro. Se verá en forma breve cómo trabajan estos sistemas, pero antes se analizará cómo las enzimas encuentran sus sustratos y cómo se mide el rendimiento enzimático.

Considere 1.000 moléculas de A y 1.000 moléculas de B en una célula eucarionte. La concentración de ambas será de alrededor de 10^{-9} M.
Si la constante de equilibrio (K) para $A + B \rightleftharpoons AB$ es de 10^{10}, en el momento del equilibrio habrá

270	270	730
A moléculas	B moléculas	AB complejo

Si la constante de equilibrio es un poco más débil de 10^8, que representa una pérdida de 2,8 kcal/mol de energía de unión respecto del ejemplo anterior, o 2-3 enlaces de hidrógeno menos, habrá

915	915	85
A moléculas	B moléculas	AB complejo

Figura 3-20. Pequeños cambios en el número de enlaces débiles pueden tener efectos drásticos sobre una interacción de unión. Este ejemplo ilustra el efecto sustancial de la presencia o la ausencia de algunos enlaces débiles no covalentes en un contexto biológico.

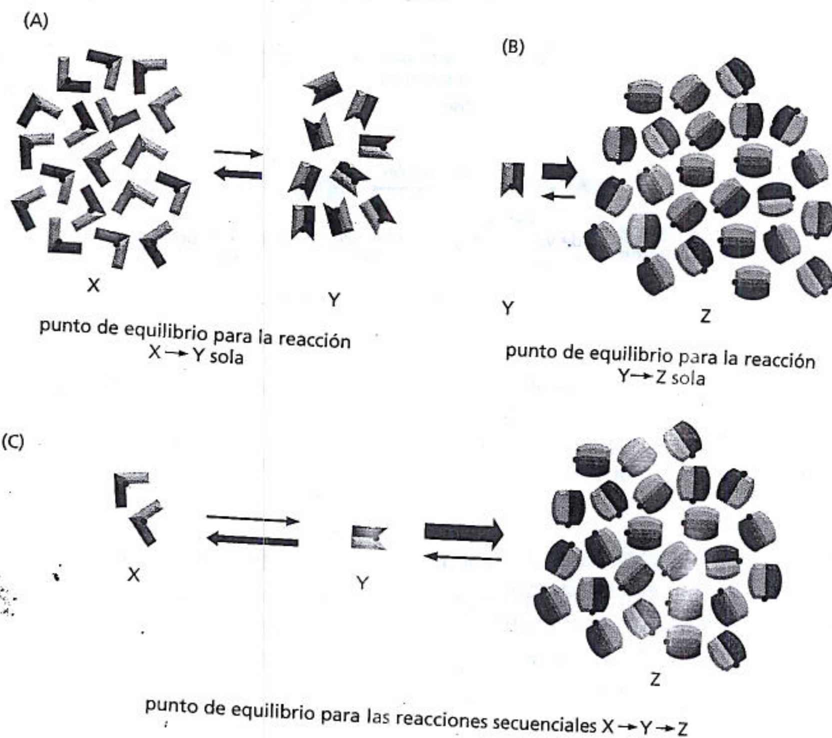


Figura 3-21. Una reacción energéticamente desfavorable puede ser impulsada por una segunda reacción, que actúa como un sifón químico. (A) En estado de equilibrio, hay el doble de moléculas de X que de Y, porque X tiene menor energía que Y. (B) En estado de equilibrio, hay 25 veces más moléculas de Z que de Y, porque Z tiene mucha menos energía que Y. (C) Si se acoplan las reacciones (A) y (B), casi todas las moléculas de X se transformarán en moléculas de Z, como se muestra. En términos energéticos, el $\Delta G°$ de la reacción Y → Z es tan negativo que, cuando se acopla a la reacción X → Y, reduce el $\Delta G°$ de X → Y, porque éste disminuye a medida que declina la relación de Y respecto de X.

PREGUNTA 3-4

Dibuje un diagrama energético de las reacciones mostradas en la figura 3-21 similar al de la figura 3-12 para las dos reacciones individuales y para las reacciones combinadas. Indique en el gráfico los cambios de energía libre estándares de las reacciones X → Y, Y → Z, y X → Z. Indique cómo cambiarían el diagrama energético las enzimas que catalizan estas reacciones.

La difusión rápida les permite a las enzimas encontrar sus sustratos

Las enzimas y sus sustratos están presentes en la célula en cantidades relativamente pequeñas, pero una enzima típica puede capturar y procesar alrededor de mil moléculas de sustrato por segundo. Esto significa que la enzima debe ser capaz de liberar su producto y unirse a un nuevo sustrato en una fracción de milisegundo. ¿Cómo pueden estas moléculas encontrarse con tanta rapidez dentro de la célula?

La unión rápida es posible porque los movimientos en el nivel molecular son enormemente rápidos. Como resultado de la energía calórica, las moléculas están en constante movimiento y, en consecuencia, exploran el espacio intracelular con mucha eficiencia desplazándose por él en forma aleatoria: un proceso denominado **difusión**. Así, cada molécula de una célula choca con una enorme cantidad de otras moléculas cada segundo. Las moléculas dentro de un líquido colisionan y se rechazan, de manera que cada una se desplaza primero en un sentido y luego en otro, en un *recorrido aleatorio* (Fig. 3-22). En este trayecto, la distancia promedio que recorre cada molécula desde su punto inicial (como el vuelo del cuervo) es proporcional a la raíz cuadrada del tiempo que emplea: es decir, si una molécula emplea en promedio 1 segundo para recorrer 1 μm, tardará 4 segundos para recorrer 2 μm, 100 segundos para recorrer 10 μm, y así sucesivamente. Por esta razón, la difusión sólo funciona bien en distancias muy cortas. Para que las moléculas se muevan rápidamente a través de distancias largas, las células necesitan confiar en métodos de transporte más activos y dirigidos, procesos que inevitablemente exigen un gasto de energía celular.



Figura 3-22. Una molécula atraviesa la célula tomando una ruta aleatoria. Las moléculas en solución se mueven en forma aleatoria debido a las continuas sacudidas que reciben durante las colisiones con otras moléculas. Este movimiento permite que las moléculas pequeñas difundan con rapidez de una parte a otra de la célula (Película 3.2).

El interior de una célula está densamente poblado (Fig. 3-23). No obstante, experimentos en los que se inyectaron colorantes fluorescentes y otras moléculas marcadas en el interior de las células demostraron que las moléculas orgánicas pequeñas difunden a través del gel acuoso denso del citosol casi con tanta rapidez como lo harían en el agua. Una molécula orgánica pequeña, por ejemplo un sustrato, tarda en promedio apenas un quinto de un segundo para difundir a una distancia de 10 μm. Por lo tanto, la difusión es una forma eficiente en la que las moléculas pequeñas recorren distancias limitadas dentro de la célula.

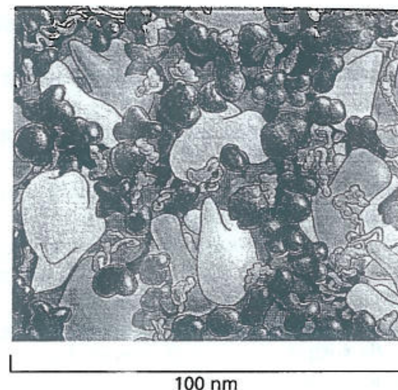


Figura 3-23. El citoplasma celular está densamente poblado por diferentes moléculas. El esquema está aproximadamente a escala. Sólo se muestran las macromoléculas: los RNA se muestran en *azul*, los ribosomas en *verde* y las proteínas en *rojo*. Las enzimas y otras macromoléculas difunden con relativa lentitud en el citoplasma, en parte porque interactúan con muchas otras macromoléculas; en cambio, las moléculas pequeñas difunden casi tan rápidamente como lo hacen en el agua. (Adaptado de D.S. Goodsell, *Trends Biochem. Sci* 16:203-206, 1991. Con permiso de Elsevier).

En cambio, las enzimas y otras macromoléculas difunden con mucha más lentitud a través del citoplasma que las moléculas pequeñas. En algunos casos, las enzimas que interactúan con otras proteínas, en realidad, están sujeta en estrecha proximidad con sus compañeras por proteínas de andamiaje que arrastran juntos grupos de proteínas que interactúan en lugares específicos de la célula. Pero aunque no estén físicamente secuestradas en un lugar, las enzimas se mueven con mucha más lentitud que las moléculas pequeñas. Así, se puede pensar que están inmóviles. Por consiguiente, la frecuencia de encuentro de cada molécula de enzima con un sustrato de molécula pequeña depende de la concentración de la molécula de sustrato. Por ejemplo, algunos sustratos abundantes están presentes en la célula a una concentración de 0,5 mM. Como el agua pura es 55 M, en la célula hay sólo una molécula de ese sustrato por cada 10^5 moléculas de agua. No obstante, el sitio activo de una enzima que se une a este sustrato será bombardeado por alrededor de 500.000 colisiones aleatorias con la molécula de sustrato por segundo. Para una concentración de sustrato diez veces menor (0,05 mM), el número de colisiones caerá a 50.000 por segundo, y así sucesivamente. Un encuentro aleatorio entre la superficie de una enzima y la superficie correspondiente de su molécula de sustrato con frecuencia induce la formación inmediata de un complejo enzima-sustrato listo para reaccionar. Entonces, se puede producir una reacción en la que se rompe o se forma un enlace covalente con extrema rapidez. Cuando se aprecia lo rápido que se desplazan y reaccionan las moléculas, no parecen tan asombrosas las velocidades de la catálisis enzimática.

Cuando una enzima y su sustrato chocan y se ubican correctamente en el sitio activo, forman múltiples enlaces débiles entre sí que persisten hasta que el movimiento térmico aleatorio hace que vuelvan a disociarse. Estas interacciones débiles pueden incluir enlaces de hidrógeno, atracciones de van der Waals y enlaces iónicos (como se analiza en el Cap. 2). En general, como ya se mencionó, cuanto más fuerte es el enlace entre la enzima y el sustrato, más lenta es su velocidad de disociación. Cuando dos moléculas que chocan tienen superficies que no se corresponden bien, se forman pocos enlaces no covalentes, y su energía total es insignificante respecto de la del movimiento térmico. En este caso, las dos moléculas se disocian con tanta rapidez como se han unido (véase Fig. 2-32). Esto es lo que evita que se formen asociaciones incorrectas y no deseadas entre moléculas no concordantes, como una enzima y un sustrato equivocado.

PREGUNTA 3-5

La enzima anhidrasa carbónica es una de las enzimas más rápidas que se conocen. Cataliza la conversión de CO_2 a HCO_3^-: $CO_2 + H_2O$ D HCO3- + H+. La rápida transformación del gas CO_2 en ión bicarbonato (HCO3-) mucho más soluble es muy importante para el transporte eficiente de CO_2 desde los tejidos, donde se produce CO_2 por la respiración, hasta los pulmones, donde es exhalado. La anhidrasa carbónica acelera la reacción 10^7 veces hidratando 10^5 moléculas de CO_2 por segundo a su velocidad máxima. ¿Qué supone usted que limita la velocidad de la enzima? Dibuje un diagrama análogo al mostrado en la figura 3-13 e indique qué porción de su diagrama ha diseñada para representar la aceleración en un factor de 10^7 veces.

$V_{máx}$ y K_M miden el rendimiento enzimático

Para catalizar una reacción, una enzima se debe unir primero a su sustrato. Luego, el sustrato sufre una reacción para formar el producto, que inicialmente permanece unido a la enzima. Por último, el producto es liberado y difunde, y deja a la enzima en libertad para que se una a otra molécula de sustrato y catalice una nueva reacción (véase Fig. 3-15). Las velocidades de estos diferentes pasos varían mucho de una enzima a otra, y se las puede medir mezclando enzimas purificadas y sustratos en condiciones cuidadosamente definidas.

En estos experimentos, si la concentración del sustrato aumenta en forma progresiva desde un valor muy bajo, la concentración del complejo enzima-sustrato, y por lo tanto, la velocidad de formación del producto, al principio aumenta en forma lineal en proporción directa a la concentración del sustrato. Sin embargo, a

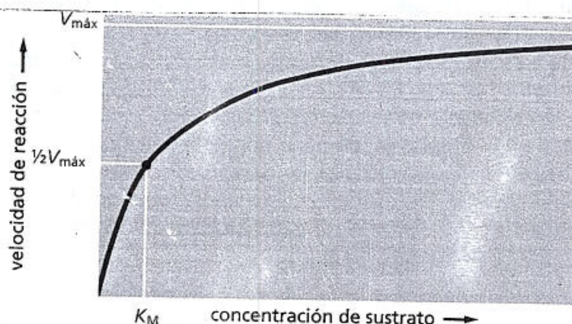


Figura 3-24. El rendimiento de una enzima depende de la rapidez con que puede procesar su sustrato. La velocidad de una reacción enzimática (*V*) aumenta a medida que se incrementa la concentración del sustrato hasta que alcanza un valor máximo $V_{máx}$. En este punto, todos los sitios de unión con el sustrato de las moléculas de enzima están completamente ocupados, y la velocidad de la reacción está limitada por la velocidad del proceso catalítico en la superficie de la enzima. Para la mayoría de las enzimas, la concentración de sustrato a la que la velocidad de la reacción es la mitad de la máxima (K_M) es un parámetro directo de cuán estrechamente está unido el sustrato, y un valor alto de K_M corresponde a un enlace débil.

medida que más y más moléculas de enzima son ocupadas por el sustrato, este aumento de la velocidad disminuye hasta que a una concentración muy elevada de sustrato alcanza un valor máximo, denominado $V_{máx}$. En este punto, los sitios activos de todas las moléculas enzimáticas de la muestra están totalmente ocupados por sustrato, y la velocidad de formación del producto depende sólo de la rapidez con que pueda ser procesada la molécula de sustrato. Para muchas enzimas, este **número de recambio** es del orden de las 1.000 moléculas de sustrato por segundo, aunque algunos de ellos son de 1 a 10.000.

La concentración de sustrato necesaria para hacer que una enzima trabaje en forma eficiente se suele medir con un parámetro diferente, la constante de Michaelis, K_M, denominada así en reconocimiento a uno de los bioquímicos que investigó esta relación. La K_M de una enzima es la concentración de sustrato con la que la enzima trabaja a la mitad de su velocidad máxima (0,5 $V_{máx}$; Fig. 3-24). Por lo general, un valor bajo de la K_M indica que el sustrato se une muy estrechamente a la enzima, y un valor elevado corresponde a una unión débil. Para una discusión sobre cómo se miden estos parámetros y cómo se los puede utilizar para modelar una vía metabólica bioquímica –y quizá diseñar mejores catalizadores (véase Biología Experimental, pp. 101-103).

PREGUNTA 3-6

En las células, un enzima cataliza la reacción AB → A + B. Sin embargo, fue aislada como una enzima que producía la reacción A + B → AB. Explique esta paradoja.

Es importante reconocer que, cuando una enzima (o un catalizador) disminuye la energía de activación de la reacción Y → X, también disminuye la energía de activación de la reacción inversa X → Y en exactamente la misma proporción (véase Fig. 3-12). Por lo tanto, las reacciones anterógradas o retrógradas serán aceleradas por una enzima en un mismo factor, y el punto de equilibrio de la reacción y, como consecuencia, el $\Delta G°$ no se modificarán (Fig. 3-25).

MOLÉCULAS TRANSPORTADORAS ACTIVADAS Y BIOSÍNTESIS

La energía liberada por la oxidación de las moléculas de los alimentos debe almacenarse transitoriamente antes de ser canalizada hacia la síntesis de otras moléculas orgánicas pequeñas o de las moléculas más grandes y más complejas que la célula necesita. En la mayoría de los casos, la energía se almacena como energía de enlace químico en un pequeño grupo de "moléculas transportadoras" activadas, que contienen uno o más enlaces covalentes ricos en energía. Estas molécu-

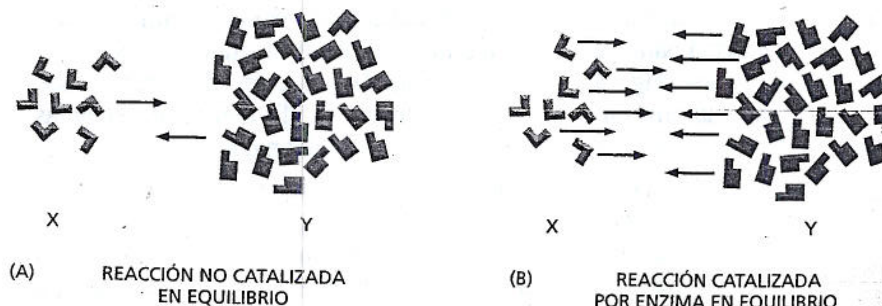


Figura 3-25. Las enzimas no pueden modificar el punto de equilibrio de las reacciones. Las enzimas, como todos los catalizadores, aceleran la velocidad de una reacción anterógrada o inversa por el mismo factor. Por lo tanto, para las reacciones no catalizadas (A) y catalizadas (B) aquí mostradas, el número de moléculas que realizan la transición X → Y es el mismo que el de las que realizan la transición Y → X, cuando la relación de moléculas de Y respecto de X es de 3,5 a 1, como se ilustra. En otras palabras, ambas reacciones, la catalizada y la no catalizada, alcanzarán por último el mismo punto de equilibrio.

UTILIZACIÓN DE LA CINÉTICA PARA MODELAR Y MANIPULAR LAS VÍAS METABÓLICAS

A primera vista, parece que las vías metabólicas de una célula están perfectamente organizadas, y que cada reacción lleva en forma predecible a la siguiente: el sustrato X se convierte en el producto Y, a través de la enzima Z. Entonces, ¿por qué alguien necesita saber con exactitud cuán estrechamente se fija una enzima particular a su sustrato? ¿O cómo es posible que ésta pueda procesar 100 o 1.000 moléculas de sustrato cada segundo?

En realidad, estos mapas metabólicos elaborados sólo sugieren qué vías *podría* seguir una célula al convertir los nutrientes en moléculas pequeñas, energía química y en los componentes más grandes de la vida. No revelan con precisión el modo de comportamiento de una célula ante un conjunto particular de condiciones: qué vías utilizará cuando esté en inanición, cuando esté bien alimentada, cuando el oxígeno es escaso, cuando es sometida a estrés o cuando decide dividirse. El estudio de la *cinética* de una enzima –con qué rapidez opera, cómo maneja su sustrato, cómo se controla su actividad– permite predecir cómo se desempeñará un determinado catalizador y cómo interactuará con otras enzimas de una red. Este conocimiento permite una comprensión más profunda de la biología celular y abre la puerta al aprendizaje de la manera de conducir las enzimas para que realicen las reacciones deseadas.

Velocidad

El primer paso para comprender cómo actúa una enzima consiste en determinar la velocidad máxima, $V_{máx}$, de la reacción que cataliza. Esto se efectúa midiendo en un tubo de ensayo la rapidez con la que se produce la reacción en presencia de diferentes concentraciones de sustrato: la velocidad se debe acelerar a medida que aumenta la cantidad de sustrato hasta que la reacción alcanza su $V_{máx}$. La velocidad de la reacción se determina controlando la rapidez con la que se consume el sustrato o con la que se acumula el producto. En muchos casos, la aparición del producto o la desaparición del sustrato se puede observar en forma directa con un espectrofotómetro. Este instrumento detecta la presencia de moléculas que absorben la luz a una longitud de onda seleccionada; p. ej., el NADH absorbe la luz a 340 nm, mientras que el compuesto oxidado, NAD^+, no. Por ello, una reacción que produce NADH (por reducción del NAD^+) se puede controlar mediante el seguimiento de la formación de NADH con un espectrofotómetro.

Para determinar la $V_{máx}$ de una reacción, se utilizaría una serie de tubos de ensayo, con una concentración diferente del sustrato cada uno. En cada tubo, se añade la misma cantidad de enzima y, luego, se mide la velocidad de la reacción: el número de micromoles de sustrato consumido o de producto generado por minuto. Como estos valores tienden a disminuir a lo largo del tiempo, la velocidad empleada es la que se determina en los primeros momentos de la reacción. Después, estos valores de la velocidad inicial (v) se grafican en función de la concentración de sustrato, lo que genera una curva como ilustrada en la **figura 3-26.**

Sin embargo, al observar este gráfico, es difícil determinar el valor exacto de $V_{máx}$, ya que no está claro cuándo alcanzará su meseta la velocidad de reacción. Para superar este problema, se

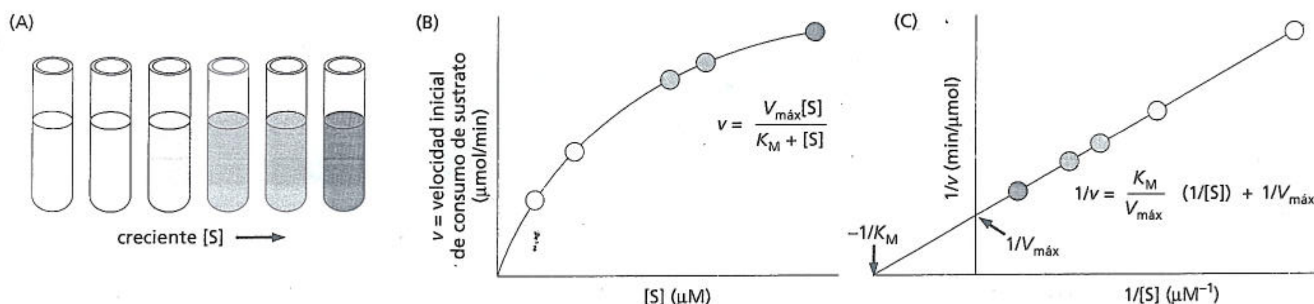


Figura 3-26. Los datos de la velocidad de la reacción se representan gráficamente para determinar la $V_{máx}$ y la K_M de una reacción catalizada por enzimas. (A) Se preparan una serie de concentraciones crecientes de sustrato, se agrega la enzima, y se determinan las velocidades iniciales. (B) Se grafican las velocidades iniciales (v) en función de las concentraciones de sustrato [S], lo que genera una curva descrita por la ecuación general $y = ax/$ (b + x). Sustituyendo los términos cinéticos, la ecuación se transforma en $v = V_{máx}$ [S]/(K_M + [S], donde $V_{máx}$ es la asíntota de la curva (el valor de y para un valor infinito de x) y K_M es igual a la concentración del sustrato donde v es la mitad de = $V_{máx}$. Esto se denomina ecuación de Michaelis-Menten, llamada así por los bioquímicos que descubrieron esta relación enzimática. (C) En un gráfico doble recíproco, se representa $1/v$ en función de 1/[S]. La ecuación que describe esta línea recta es $1/v$ = (K_M /$V_{máx}$ (1/[S])+ 1/$V_{máx}$. Cuando 1/[S] = 0, la intersección del eje y con (1/v) es 1/$V_{máx}$. Cuando $1/v = 0$, la intersección del eje x con 1/[S] es $-1/K_M$. Por convención, se usan las letras minúsculas para las variables (por ello v para la velocidad) y las mayúsculas para las constantes (por esa razón se escribe $V_{máx}$).

convierten los datos en sus recíprocos, y se los representa en un "gráfico recíproco doble", en el que la inversa de la velocidad ($1/v$) aparece en el eje y, mientras que la inversa de la concentración del sustrato ($1/[S]$) lo hace x (véase Fig. 3-26C). Este gráfico genera una línea recta cuya intersección con el eje y (el punto en que la línea cruza el eje de las ordenadas) representa la inversa de la velocidad máxima ($1/V_{máx}$), y la intersección de la línea recta con el eje x corresponde a $-1/K_M$. Después, es fácil transformar estos valores en los de $V_{máx}$ y K_M.

Los enzimólogos utilizan esta técnica para determinar los parámetros cinéticos de muchas reacciones catalizadas por enzimas (aunque en la actualidad se dispone de programas de computación que representan gráficamente los datos y calculan los valores buscados en forma automática). Sin embargo, algunas reacciones suceden con tanta rapidez que no se pueden controlar de esta manera; la acción se completa básicamente –el sustrato se consume en su totalidad– en milésimas de segundo. Para estas reacciones hay que utilizar un equipamiento especial, que permite observar lo que sucede durante los primeros milisegundos tras el encuentro del sustrato y la enzima (Fig. 3-27).

Control

Los sustratos no son las únicas moléculas que influyen en la eficacia o en la celeridad de la acción de una enzima. Muchas enzimas también pueden ser controladas por productos, sustratos similares, sustancias similares al sustrato, inhibidores, tóxicos y otras moléculas pequeñas que, o bien aumentan o bien disminuyen su actividad. Esta regulación les permite a las células controlar cuándo y con qué rapidez se producen diversas reacciones, un proceso que se considerará con mayor detalle en el capítulo 4.

Determinar cómo disminuye un inhibidor la actividad de una enzima puede revelar la forma de regulación de una vía metabólica y sugerir cómo se pueden evitar estos puntos de control mediante mutaciones cuidadosamente diseñadas de genes específicos.

El efecto de un inhibidor sobre la actividad de una enzima se puede controlar de la misma manera en que se mide la cinética enzimática. Se genera una curva que muestra la velocidad de la reacción entre la enzima y el sustrato, como ya se describió. También se trazan curvas adicionales para reacciones en las que se ha incluido en la mezcla la molécula inhibidora.

Asimismo, la comparación de estas curvas, con inhibidor y sin él, puede revelar cómo un inhibidor particular impide la actividad enzimática. Por ejemplo, algunos inhibidores se unen al mismo sitio de la enzima al que se une el sustrato. Estos *inhibidores competitivos* bloquean la actividad enzimática compitiendo directamente con el sustrato por los sitios de unión de la enzima. Se asemejan al sustrato lo suficiente como para unirse a la enzima, pero difieren los bastante en su estructura como para no ser convertidos en el producto. Este bloqueo se puede superar si se agrega una cantidad suficiente de sustrato, de manera que la enzima tenga mayor probabilidad de encontrar una molécula de sustrato que de inhibidor. A partir de los datos cinéticos, se observa que los inhibidores competitivos no modifican la $V_{máx}$ de una reacción; en otras palabras, si se añade suficiente sustrato, la enzima encontrará, en su mayor parte, moléculas de sustrato y alcanzará su máxima velocidad (Fig. 3-28).

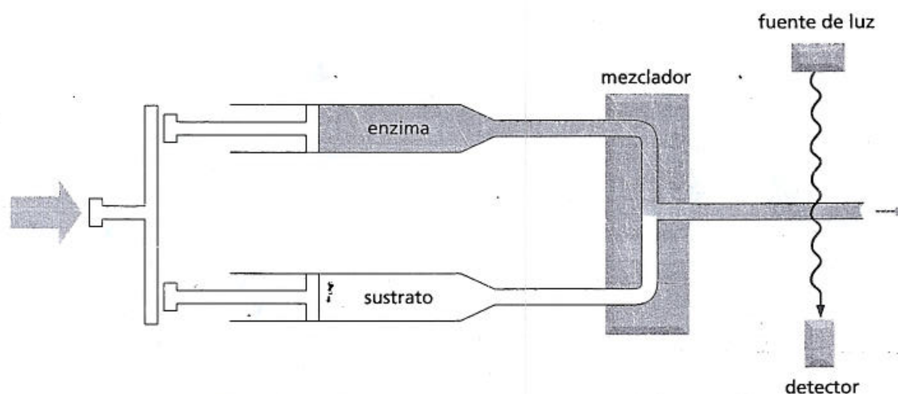


Figura 3-27. Se utiliza un aparato de detención del flujo para observar las reacciones durante los primeros milisegundos. En este equipo, la enzima y el sustrato se inyectan rápidamente en una cámara de mezcla mediante dos jeringas. La enzima y su sustrato se encuentran cuando atraviesan el tubo de mezcla a velocidades de flujo que pueden alcanzar con facilidad los 1.000 cm/seg. Después, ingresan en otro tubo y pasan por un detector que controla la aparición del producto. Si el detector está localizado dentro del centímetro donde la enzima y el sustrato se encuentran por primera vez, se pueden observar reacciones a sólo algunos milisegundos de iniciada.

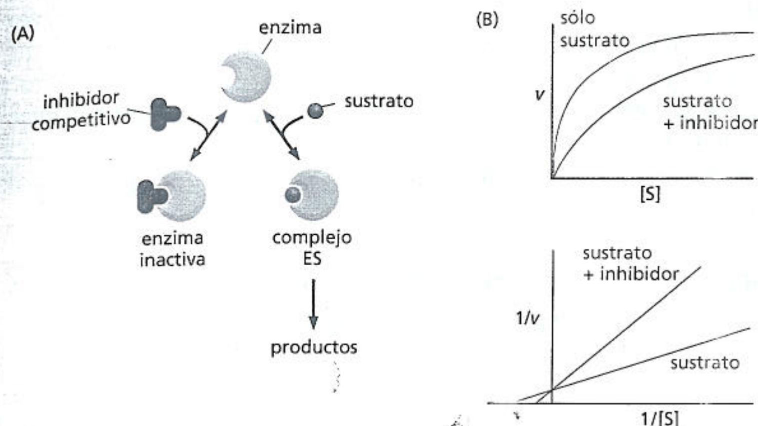


Figura 3-28. Un inhibidor competitivo bloquea directamente la unión al sustrato. (A) El sitio activo de una enzima se puede unir al inhibidor competitivo o al sustrato, pero no a ambos simultáneamente. (B) El gráfico superior muestra que la inhibición por un inhibidor competitivo se puede superar aumentando la concentración de sustrato. El gráfico recíproco doble inferior muestra que la $V_{máx}$ de la reacción no se modificó en presencia del inhibidor competitivo: la intersección con el eje *y* es idéntica en ambas curvas.

La inhibición competitiva se puede utilizar para el tratamiento de los pacientes intoxicados con etilenglicol, un componente de anticongelantes comerciales. Aunque el etilenglicol por sí mismo no tiene una toxicidad fatal, un subproducto de su metabolismo, el ácido oxálico, puede ser letal. Para impedir la formación de ácido oxálico a partir del etilenglicol, se le administra al paciente un dosis considerable (aunque no demasiado tóxica) de etanol. El etanol compite con el etilenglicol por la unión con la alcohol deshidrogenasa, la primera enzima de la vía de formación de ácido oxálico. En consecuencia, el etilenglicol permanece no metabolizado en su mayor parte y es eliminado del organismo de manera segura.

Otros tipos de inhibidores pueden interactuar con sitios de la enzima alejados del sitio de unión al sustrato. Por ejemplo, los agentes quelantes que se unen en forma reversible con iones como el Mg^{2+} inhibirán a las enzimas que necesita ese metal para su actividad. En este caso, el sustrato se puede unir a la enzima, pero el complejo enzima-sustrato no se formará con tanta rapidez como sucedería en ausencia del inhibidor. Esta inhibición no puede ser superada agregando mayor cantidad de sustrato.

Diseño

Con los datos cinéticos a la vista, se pueden aprovechar los programas de modelado para predecir cómo será el rendimiento de una enzima e, incluso, cómo responderá una célula expuesta a diferentes condiciones: p. ej., el agregado de un azúcar o un aminoácido particular al medio de cultivo o el agregado de un tóxico o un agente de polución. Observar la forma en que una célula maneja sus recursos –qué vías favorece para enfrentar desafíos bioquímicos específicos– también puede sugerir estrategias que se pueden adoptar para diseñar mejores catalizadores de reacciones de importancia médica o comercial (p. ej., producción de fármacos o destoxificantes de residuos industriales). Utilizando esas tácticas, se han manipulado genéticamente bacterias para que produzcan grandes cantidades de índigo: el colorante, extraído originalmente de las plantas, que les da a los pantalones vaqueros (blue jeans) su color azul.

Se desarrollaron varios programas de computación para facilitar el estudio de las vías de reacción complejas. Uno de esos programas requiere información acerca de las reacciones individuales, como velocidades y las concentraciones de enzimas, sustratos, productos, inhibidores y otras moléculas reguladoras. Después, el programa predice cómo fluirán las moléculas a lo largo de la vía, qué productos se generarán y dónde podría haber cuellos de botella. El proceso no difiere mucho de equilibrar una ecuación algebraica en la que debe ser tenido en cuenta cada átomo de carbono, nitrógeno, oxígeno, etc. Esta consideración cuidadosa permite diseñar maneras racionales de manipular la vía metabólica: p. ej., reorientarla alrededor de un cuello de botella, eliminar un inhibidor importante, redireccionar las reacciones para favorecer la generación predominante de un producto o extender la vía para producir una nueva molécula. Por supuesto, estos modelos deben ser investigados y validados en células, que no siempre se comportan como se ha previsto.

Por lo general, la producción de células de diseño que generan productos comerciales exige usar técnicas de ingeniería genética para introducir el gen o los genes de elección dentro de una célula, habitualmente una bacteria, que puede ser manipulada y conservada en el laboratorio. Estos métodos se analizan con más detalle en el capítulo 10. En la actualidad, aprovechar el potencial de la biología celular con propósitos comerciales –aun para producir algo tan simple como el aminoácido triptófano– es una industria de miles de millones de dólares. Además, a medida que se obtengan más datos de genomas, que permiten conocer más enzimas, quizá no transcurra demasiado tiempo hasta que tanques de bacterias fabricadas a medida estén sintetizando fármacos y sustancias químicas que representen el equivalente biológico del oro puro.

las difunden con rapidez a través de la célula y, por ende, pueden transportar su energía de enlace desde los sitios donde se genera la energía hasta los sitios donde ésta es utilizada para la **biosíntesis** y para otras actividades celulares necesarias (Fig. 3-29).

Los **transportadores activados** almacenan la energía en forma intercambiable, ya sea como un grupo químico que se transfiere con facilidad o como electrones de alta energía, y pueden desempeñar un doble papel como fuente de energía y como fuente de grupos químicos para reacciones biosintéticas. Las más importantes de las moléculas transportadoras activadas son ATP y dos moléculas estrechamente relacionadas entre sí, NADH y NADPH. Las células utilizan las moléculas transportadoras activadas como dinero para pagar por reacciones que, de otro modo, no podrían producirse.

La formación de un transportador activado está acoplada a una reacción energéticamente favorable

Cuando una molécula de combustible como la glucosa se oxida en una célula, las reacciones catalizadas por enzimas aseguran que una gran parte de la energía libre que se libera por oxidación sea capturada en una forma química útil, en lugar de que se libere y se pierda como calor. (La combustión del azúcar en una célula le permite impulsar reacciones metabólicas, mientras que quemar una barra de chocolate en la calle no lo llevará a ningún lado, energéticamente hablando: no produce ninguna energía útil desde el punto de vista metabólico). En los sistemas vivos, esta captura de energía se logra mediante una **reacción acoplada**, en la cual una reacción energéticamente favorable se utiliza para impulsar otra energéticamente desfavorable que produce una molécula transportadora activada o alguna otra molécula útil. Los mecanismos de acoplamiento requieren enzimas y son fundamentales para todas las transacciones energéticas de la célula.

La naturaleza de una reacción acoplada se ilustra por medio de una analogía mecánica en la figura 3-30, en la que una reacción química energéticamente favorable se representa por rocas que caen desde un acantilado. La energía de las rocas que caen normalmente se perdería por completo en forma de calor generado por la fricción que se produce cuando las rocas golpean contra el suelo (Fig. 3-30A). Sin embargo, mediante un diseño cuidadoso, una parte de esta energía se podría utilizar para mover una rueda de palas que levante un balde de agua (Fig. 3-30B). Como ahora las rocas sólo pueden alcanzar el suelo después de haber movido la rueda de palas, decimos que la reacción energéticamente favorable de la caída de las rocas ha sido acoplada directamente a la reacción energéticamente desfavorable de levantar el balde de agua. Como una parte de la energía se utiliza para hacer un trabajo en (B), las rocas golpean contra el suelo con menor velocidad que en (A), en consecuencia se pierde menos energía en forma de calor. La energía ahorrada se puede emplear para realizar trabajo útil (Fig. 3-30C).

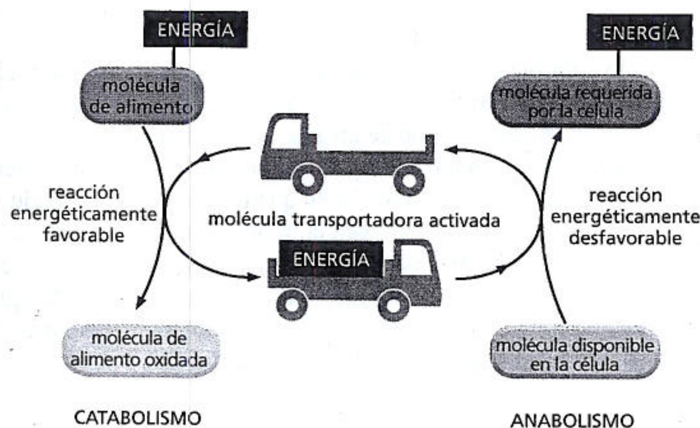
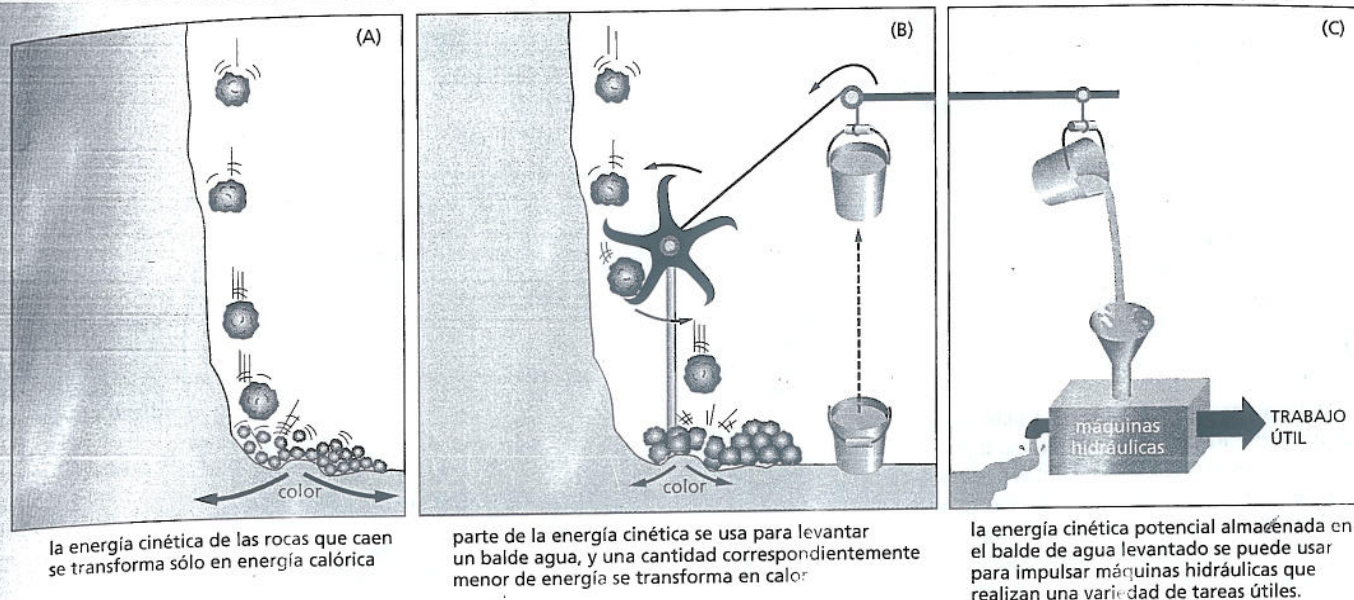


Figura 3-29. Los transportadores activados pueden almacenar y transferir la energía necesaria para el metabolismo. Las moléculas transportadoras activadas, al transferir energía, realizan su función como vehículos que relacionan la degradación de moléculas de alimento y la liberación de energía (catabolismo) con las reacciones que requieren energía para la biosíntesis de moléculas orgánicas pequeñas y grandes (anabolismo).



la energía cinética de las rocas que caen se transforma sólo en energía calórica

parte de la energía cinética se usa para levantar un balde agua, y una cantidad correspondientemente menor de energía se transforma en calor

la energía cinética potencial almacenada en el balde de agua levantado se puede usar para impulsar máquinas hidráulicas que realizan una variedad de tareas útiles.

Figura 3-30. Modelo mecánico que ilustra el principio de las reacciones químicas acopladas. La reacción espontánea que se muestra en (A) podría servir como analogía de la oxidación directa de la glucosa a CO_2 y H_2O, que produce sólo calor. En (B), la misma reacción está acoplada a una segunda reacción; que podría servir como analogía de la síntesis de moléculas transportadoras activadas. La energía producida en (B) está en una forma más útil que en (A) y se puede usar para impulsar diversas reacciones que de otra manera serían energéticamente desfavorables (C).

En las células se producen procesos análogos, donde las enzimas desempeñan el papel de la rueda de palas de la figura 3-30B. Mediante mecanismos que se analizarán en el capítulo 13, las enzimas acoplan una reacción energéticamente favorable, como la oxidación de los alimentos, a una reacción energéticamente desfavorable, como la generación de una molécula transportadora activada. Como resultado, la cantidad de calor liberado por la reacción de oxidación disminuye exactamente en la cantidad de energía que se almacena en los enlaces covalentes ricos en energía de la molécula transportadora activada. A su vez, la molécula transportadora activada recoge un paquete de energía suficientemente grande para impulsar una reacción química en otro sitio de la célula.

El ATP es la molécula transportadora activada más utilizada

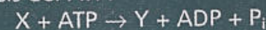
El más importante y versátil de los transportadores activados de las células es el ATP (adenosina 5'-trifosfato). Así como la energía almacenada en el balde de agua levantado de la figura 3-30B se puede utilizar para impulsar una amplia variedad de máquinas hidráulicas, el ATP cumple la función de un depósito o moneda de energía, conveniente y versátil, capaz de impulsar numerosas reacciones químicas en las células. Como se muestra en la **figura 3-31**, el ATP se sintetiza mediante una reacción de *fosforilación* energéticamente desfavorable, en la que se agrega un grupo fosfato al ADP (adenosina 5'-difosfato). Cuando es necesario, el ATP libera este paquete de energía mediante una hidrólisis energéticamente favorable en la que se forman ADP y fosfato inorgánico (P_i). Después, el ADP regenerado puede ser utilizado en una nueva reacción de fosforilación que forma ATP, lo que crea un ciclo de ATP en la célula.

La reacción de hidrólisis del ATP energéticamente favorable está acoplada a muchas otras reacciones por lo demás desfavorables, por medio de las cuales se sintetizan otras moléculas. Más adelante en este capítulo, se encontrarán muchas de estas reacciones, y se verá cómo se realizan con exactitud. Estas reacciones de hidrólisis implican con frecuencia la transferencia del fosfato terminal del ATP a otra molécula, como se ilustra en la **figura 3-32**. Cualquier reacción en la que se transfiere un grupo fosfato a una molécula se denomina reacción de fosforilación. Las reacciones de fosforilación son ejemplos de reacciones de condensación (véase Fig. 2-25) y participan en muchas funciones celulares importantes: activan sustratos, facilitan el intercambio de energía química y ayudan a controlar los procesos de señalización celular.

El ATP es el transportador de energía más abundante de las células. Se utiliza, por ejemplo, para suministrar energía a muchas de las bombas que transportan sus-

PREGUNTA 3-7

Utilice la figura 3-30B para ilustrar la siguiente reacción impulsada por la hidrólisis del ATP:



$$X + ATP \rightarrow Y + ADP + P_i$$

A. En este caso, ¿qué molécula o moléculas serían análogas a: (i) las rocas en lo alto del acantilado, (ii) las rocas fragmentadas en la base del acantilado, (iii) el balde de agua en su punto más elevado y (iv) el balde de agua en el suelo?

B. ¿Qué sería análogo a: (i) las rocas que golpean contra el suelo en ausencia de la rueda de palas de la figura 3-30A, (ii) la máquina hidráulica de la figura 3-30C?

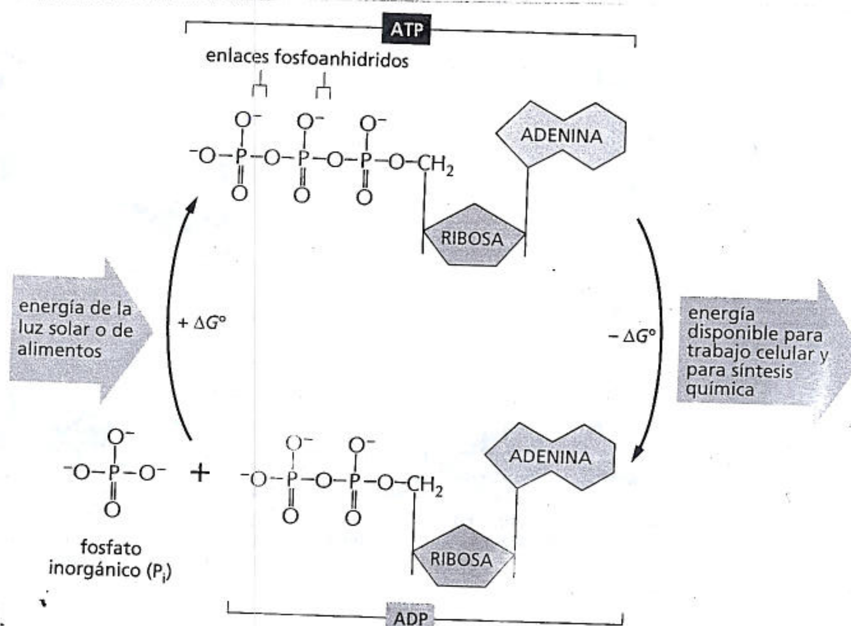


Figura 3-31. La interconversión de ATP y ADP se produce en un ciclo. Los dos fosfatos más externos del ATP se mantienen unidos al resto de la molécula por enlaces fosfoanhidridos de alta energía, que son transferidos con facilidad. Se puede agregar agua al ATP para formar ADP y fosfato inorgánico (P_i). Esta hidrólisis del fosfato terminal del ATP produce entre 11 y 13 kcal/mol de energía utilizable. Aunque el $\Delta G°$ de esta reacción es de –7,3 kcal/mol, el ΔG es mucho más negativo porque la relación del ATP con los productos ADP y P_i es alto dentro de la célula. El alto valor negativo de $\Delta G°$ de la reacción se debe a una serie de factores. La liberación de un grupo fosfato terminal elimina una repulsión desfavorable entre cargas negativas adyacentes; además, el ión fosfato inorgánico (P_i) liberado se estabiliza por resonancia y por la formación enlaces de hidrógeno favorables con el agua. La formación de ATP a partir de ADP y P_i revierte la reacción de hidrólisis. Como esta reacción de condensación es energéticamente desfavorable, debe estar acoplada a una reacción energéticamente más favorable para que se produzca.

tancias hacia el interior y el exterior de la célula (analizadas en el Cap. 12); también impulsa los motores moleculares que permiten la contracción de las células musculares y el transporte de materiales de un extremo a otro de los largos axones de las células nerviosas (analizado en el Cap. 17). De todos modos, sigue siendo un misterio por qué la evolución eligió a este nucleótido particular entre los demás como principal transportador de energía.

La energía almacenada en el ATP se suele utilizar para unir dos moléculas

Ya se ha analizado una manera en la que una reacción energéticamente favorable, Y → X, se puede acoplar con una reacción energéticamente desfavorable, X → Y, de manera que ésta tenga lugar. En ese esquema, una segunda enzima cataliza la reacción energéticamente favorable Y → Z y arrastra la totalidad de X a Y en el proceso (véase Fig. 3-21). Sin embargo, este mecanismo no es útil cuando el producto requerido es Y y no Z.

PREGUNTA 3-8

El enlace fosfoanhidrido que une dos grupos fosfatos del ATP con una unión de alta energía tiene un $\Delta G°$ de –7,3 kcal/mol (–30,5 kJ/mol). La hidrólisis de este enlace libera de 11 a 13 kcal/mol de energía utilizable. ¿Cómo puede suceder esto? ¿Por qué piensa que se menciona un rango de energías en lugar de un número preciso como para $\Delta G°$?

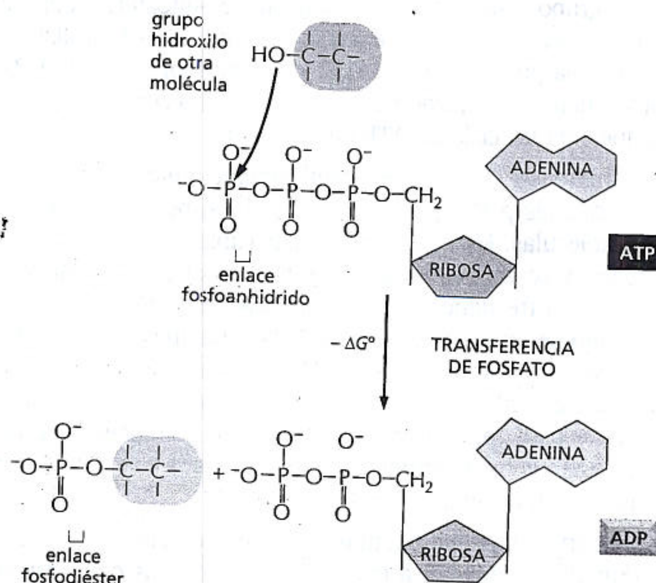
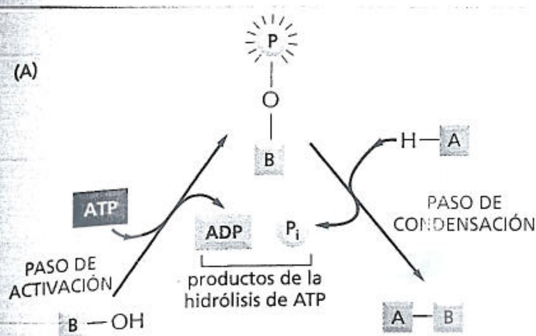


Figura 3-32. El fosfato terminal del ATP se puede transferir con facilidad a otras moléculas. Como el enlace fosfoanhidrido rico en energía del ATP se transforma en un enlace fosfoéster de menor energía, esta reacción es energéticamente favorable y tiene un $\Delta G°$ muy negativo. Las reacciones de fosforilación de este tipo participan en la síntesis de fosfolípidos y en los pasos iniciales de las reacciones que catabolizan azúcares, así como en muchos otros eventos metabólicos.



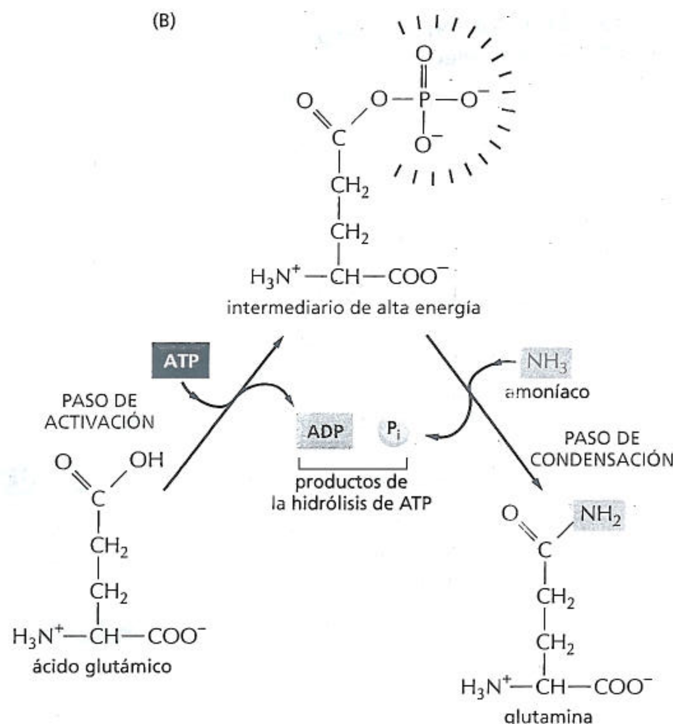
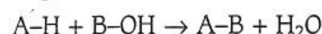


Figura 3-33. Una reacción biosintética desfavorable puede ser impulsada por hidrólisis de ATP. (A) Ilustración esquemática de la formación de A-B mediante la reacción de condensación descrita en el texto. (B) Biosíntesis del aminoácido glutamina. El ácido glutámico se convierte primero en un compuesto intermedio fosforilado de alta energía (que corresponde al compuesto B-O-PO_3 descrito en el texto), que luego reacciona con amoníaco (que corresponde a A-H) y forma glutamina. En este ejemplo, ambos pasos tienen lugar en la superficie de la misma enzima, la glutamina sintetasa. Para mayor claridad, la cadena lateral de ácido glutámico se muestra en la forma sin carga. La hidrólisis de ATP puede impulsar esta reacción energéticamente desfavorable porque genera más energía ($\Delta G°$ de −7,3 kcal/mol) que la que consume la síntesis de glutamina a partir de ácido glutámico y NH_3 ($\Delta G°$ de +3,4 kcal/mol).

Un tipo común de reacción necesaria para la biosíntesis es aquella en la que dos moléculas, A y B, se unen y producen A-B mediante una reacción de condensación energéticamente desfavorable:

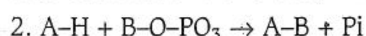


$$A\text{–}H + B\text{–}OH \rightarrow A\text{–}B + H_2O$$

La hidrólisis del ATP se puede acoplar indirectamente con esta reacción para que avance. Es decir, la energía de la hidrólisis del ATP se utiliza, en primer término, para transformar B-OH en un compuesto intermedio de mayor energía, que después reacciona directamente con A-H y produce A-B. El mecanismo más simple posible implica la transferencia de un fosfato a partir del ATP al B-OH formando B-O-PO_3, en cuyo caso la vía de reacción tiene sólo dos pasos:



1. $B\text{–}OH + ATP \rightarrow B\text{–}O\text{–}PO_3 + ADP$



2. $A\text{–}H + B\text{–}O\text{–}PO_3 \rightarrow A\text{–}B + Pi$



Resultado neto: $B\text{–}OH + ATP + A\text{–}H \rightarrow A\text{–}B + ADP + Pi$

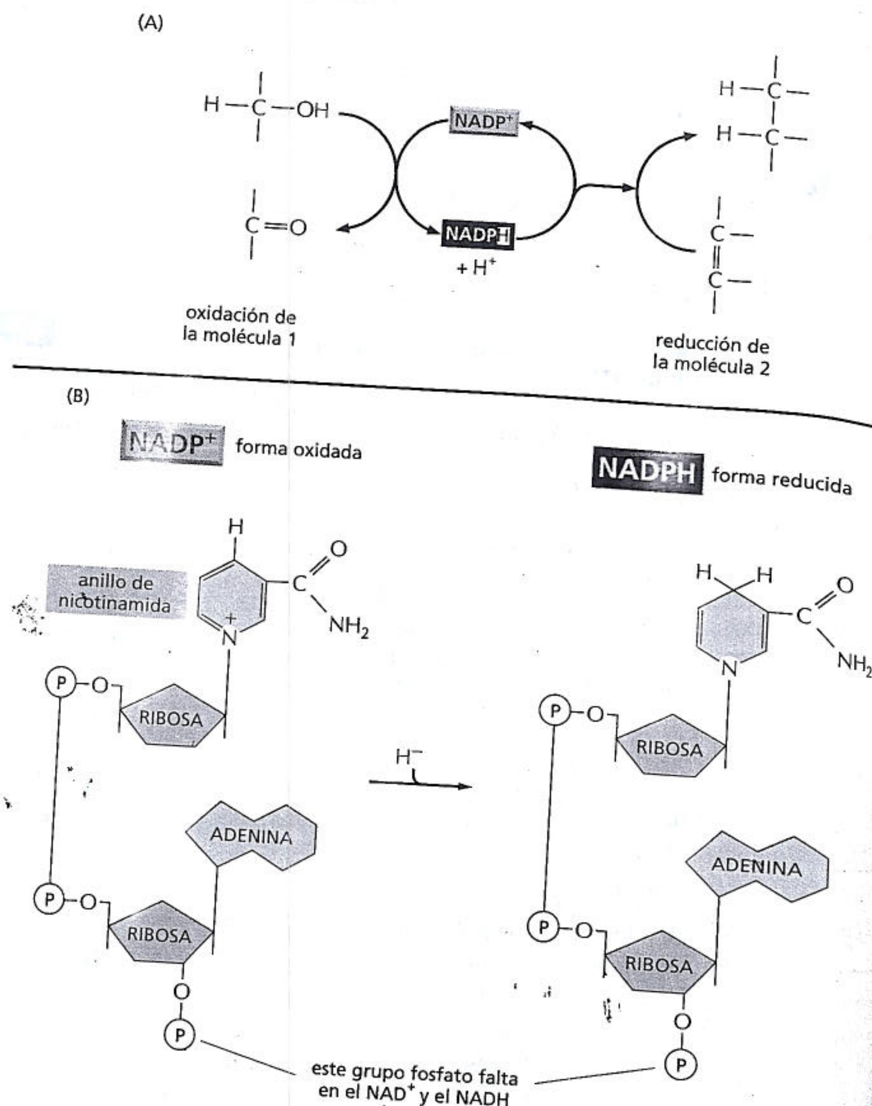
Se ha forzado la reacción de condensación, que por sí misma es energéticamente desfavorable, por estar acoplada directamente a la hidrólisis del ATP en una vía de reacción catalizada por enzimas (Fig. 3-33A).

Una reacción biosintética exactamente de este tipo se emplea para sintetizar el aminoácido glutamina, como se ilustra en la figura 3-33B. Más adelante, en este capítulo se verá que también se utilizan mecanismos muy similares (pero más complejos) para sintetizar casi todas las grandes moléculas de la célula.

NADH y NADPH son transportadores importantes de electrones

Otras moléculas transportadoras activadas importantes participan en reacciones de oxidación-reducción y suelen ser parte de reacciones acopladas en las células. Estos transportadores activados están especializados en transportar electrones y átomos de hidrógeno de alta energía. Los más importantes de estos transportadores de electrones son el NAD+ (nicotinamida adenina dinucleótido) y la molécula estrechamente relacionada NADP+ (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato). Tanto el NAD+ como el NADP+ recogen "paquetes de energía" en forma de dos electrones de alta energía más un protón (H+), transformándose en NADH (nico-

Figura 3-34. El NADPH es un importante transportador de electrones. (A) El NADPH se produce en reacciones del tipo general mostrado a la izquierda, en las que se eliminan dos átomos de hidrógeno de un sustrato. La forma oxidada de la molécula transportadora, NADP+, recibe un átomo de hidrógeno más un electrón (un ión hidruro) y el protón (H+) del otro átomo de hidrógeno se libera en la solución. Como el NADPH mantiene su ión hidruro mediante un enlace de alta energía, el ión hidruro agregado puede transferirse con facilidad a otras moléculas, como se muestra a la derecha. (B) Estructura del NADP+ y del NADPH. La parte de la molécula de NADP+ conocida como anillo de nicotinamida acepta dos electrones y un protón (el equivalente a un ión hidruro, H–) y forma NADPH. NAD+ y NADH son idénticos en estructura a NADP+ y NADPH, respectivamente, excepto que carecen del grupo fosfato indicado.



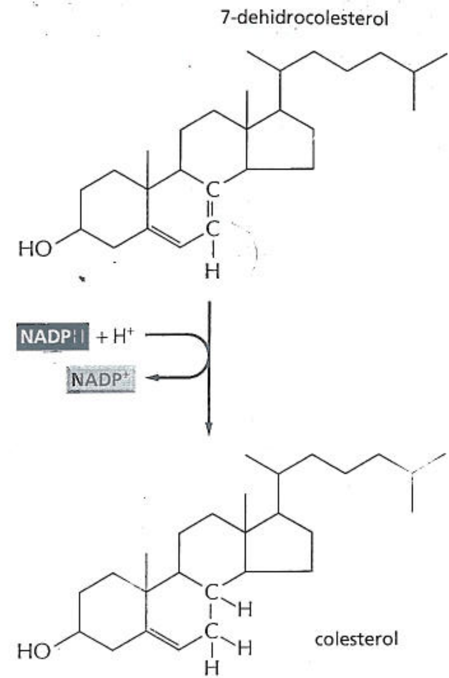
tinamida adenina dinucleótido reducido) y **NADPH** (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido), respectivamente. Estas moléculas también se pueden considerar transportadores de iones hidruro (el H+ más dos electrones, o H-).

Como el ATP, el NADPH es un transportador activado que participa en muchas reacciones biosintéticas importantes que, de otra manera, serían energéticamente desfavorables. El NADPH se produce según el esquema general que se muestra en la **figura 3-34**. Durante un conjunto especial de reacciones catabólicas productoras de energía, un átomo de hidrógeno y dos electrones se eliminan de la molécula de sustrato y se agregan al anillo de nicotinamida del NADP+ formando NADPH. Esta es una típica reacción de oxidación-reducción: el sustrato se oxida y el NADP+ se reduce.

El ión hidruro transportado por el NADPH es cedido con facilidad en una reacción posterior de oxidación-reducción, porque el anillo puede alcanzar una disposición de electrones más estable sin él. En esta reacción posterior, que regenera NADP+, el NADPH se oxida y el sustrato se reduce, lo que completa el ciclo del NADPH. El NADPH es eficiente para donar su ión hidruro a otras moléculas por la misma razón que el ATP transfiere fácilmente el fosfato: en ambos casos, la transferencia se acompaña de un gran cambio negativo de energía libre. La **figura 3-35** presenta un ejemplo del uso del NADPH en la biosíntesis.

La diferencia de un solo grupo fosfato no tiene ningún efecto en las propiedades de transferencia de electrones del NADPH en comparación con el NADH, pero es crucial para sus papeles distintivos. El grupo fosfato extra del NADPH está aleja-

Figura 3-35. El NADPH participa en la etapa final de una de las vías de biosíntesis de colesterol. Como en muchas otras reacciones biosintéticas, la reducción del enlace C=C se logra por transferencia de un ión hidruro de la molécula transportadora NADPH, más un protón (H+) de la solución.



do de la región implicada en la transferencia de electrones (véase Fig. 3-34B). Sin embargo, otorga a la molécula de NADPH una forma ligeramente diferente a la de NADH, lo que posibilita que el NADPH y el NADH se unan como sustratos a diferentes grupos de enzimas. Así, estos dos tipos de transportadores llevan electrones (o iones hidruro) a diferentes destinos.

¿Por qué existe esta división del trabajo? La respuesta reside en la necesidad de regular dos conjuntos de reacciones de transferencia de electrones en forma independiente. El NADPH actúa principalmente con enzimas que catalizan reacciones anabólicas y aporta los electrones de alta energía con los que se sintetizan moléculas biológicas ricas en energía. Por el contrario, el NADH desempeña un papel especial como intermediario en el sistema catabólico de reacciones que generan ATP a través de la oxidación de las moléculas alimentarias, como se analiza en el capítulo 13. El origen del NADH a partir del NAD+ y el del NADPH a partir del NADP+ siguen vías diferentes y están regulados de modo independiente, de manera que la célula puede ajustar el suministro de electrones para estos dos propósitos contrapuestos. Dentro de la célula, la relación NAD+/NADH se mantiene alta, mientras que la relación NADP+/NADPH permanece baja. Esto proporciona una gran cantidad de NAD+ para actuar como agente oxidante y una gran cantidad de NADPH para actuar como agente reductor, como lo exigen sus particulares funciones en el catabolismo y en el anabolismo, respectivamente.

En las células hay muchas otras moléculas transportadoras activadas

Otros transportadores activados también fijan y transportan un grupo químico en un enlace de alta energía fácilmente transferible (**cuadro 3-2**). Por ejemplo, $FADH_2$, al igual que NADH y NADPH, también transporta hidrógeno y electrones de alta energía (véase Fig. 13-12). Por otra parte, la coenzima A transporta un grupo acetilo mediante un enlace fácilmente transferible. La **figura 3-36** ilustra esta molécula activada, denominada **acetil CoA** (acetil coenzima A), que es utilizada, por ejemplo, para agregar unidades de dos carbonos en la biosíntesis de las colas hidrocarbonadas de los ácidos grasos.

En la acetil CoA y en las otras moléculas transportadoras del cuadro 3-2, el grupo transferible representa sólo una parte pequeña de la molécula. El resto consiste en una gran porción orgánica que actúa como un "mango" conveniente que facilita el reconocimiento de la molécula transportadora por enzimas específicas. Como ocurre con la acetil CoA, este mango contiene muy a menudo un nucleótido. Este hecho curioso puede ser un vestigio de un estadio temprano de la evolución celular. Se piensa que los principales catalizadores de las formas iniciales de la vida en

CUADRO 3-2. ALGUNAS MOLÉCULAS TRANSPORTADORAS ACTIVADAS UTILIZADASAMPLIAMENTE EN EL METABOLISMO

TRANSPORTADOR ACTIVADO	GRUPO TRANSPORTADO EN UN ENLACE DE ALTA ENERGÍA
ATP	Fosfato
NADH, NAPH, $FADH_2$	Electrones e hidrógenos
Acetil CoA	Grupo acetilo
Biotina carboxilada	Grupo carboxilo
S-adenosilmetionina	Grupo metilo
Uridina difosfato glucosa	Glucosa

Figura 3-36. La acetil coenzima A (CoA) es otra importante molécula transportadora activada. En la parte superior, se muestra un modelo espacial de la estructura de la acetil CoA. El átomo de azufre *(amarillo)* forma un enlace tioéster con el ácido acético. Como éste es un enlace de alta energía, libera gran cantidad de energía libre al ser hidrolizado; de esta manera, el grupo acetilo transportado por la CoA se puede transferir con facilidad a otras moléculas.

grupo acetilo

nucleótido

ADENINA

RIBOSA

enlace de alta energía

grupo acetilo

acetil coenzima A (CoA)

la Tierra eran moléculas de RNA (o sus parientes cercanos), y que las proteínas fueron un agregado evolutivo más tardío (analizado en el Cap. 7). Por lo tanto, es tentador especular que muchas de las moléculas transportadoras actuales se originaron en un mundo previo de RNA, en el que sus porciones nucleotídicas podrían haber sido útiles para unir estos transportadores a enzimas de RNA.

Además de las reacciones de transferencia catalizadas por las moléculas transportadoras activadas ATP (transferencia de fosfato) y NADPH (transferencia de electrones e hidrógeno), otras reacciones importantes implican la transferencia de grupos metilo, carboxilo y glucosa a partir de moléculas transportadoras activadas con propósitos biosintéticos. Por lo general, los transportadores activados se generan mediante reacciones acopladas a la hidrólisis del ATP (Fig. 3-37). Por lo tanto la energía que permite que sus grupos sean utilizados para la biosíntesis proviene, en última instancia, de las reacciones catabólicas que producen ATP. En la síntesis de las moléculas más grandes y complejas de la célula –los ácidos nucleicos, las proteínas y los polisacáridos– se observan procesos similares, como se analizará a continuación.

La síntesis de los polímeros biológicos exige un aporte de energía

Las macromoléculas de la célula constituyen la mayor parte de su masa seca; es decir, la masa celular que no es agua. Estas moléculas están formadas por *subunidades* (o monómeros) unidos entre sí por enlaces formados durante una reacción de condensación catalizada por enzimas. La reacción inversa –la rotura de los polímeros– se produce por hidrólisis catalizada por enzimas. Estas reacciones de hidrólisis son energéticamente favorables, mientras que las reacciones biosintéticas requieren un aporte de energía y son más complejas (Fig. 3-38).

Los ácidos nucleicos (DNA y RNA), las proteínas y los polisacáridos son polímeros que se producen por la adición repetida de una subunidad a uno de los extremos de una cadena en crecimiento. La figura 3-39 ilustra el proceso de síntesis de cada uno de estos tipos de macromoléculas. Como se indicó, el paso de co

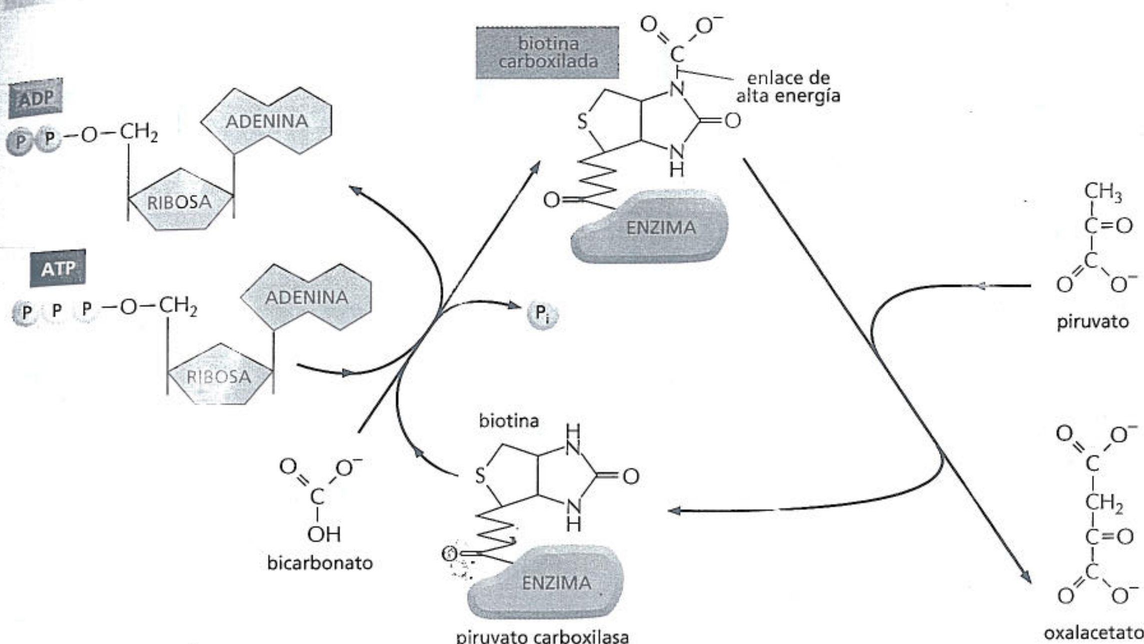


Figura 3-37. Una molécula transportadora activada transfiere un grupo carboxilo a una molécula de sustrato. La biotina carboxilada es utilizada por la enzima *piruvato carboxilasa* para transferir un grupo carboxilo en la producción de oxalacetato, una molécula necesaria para el ciclo del ácido cítrico. La molécula aceptora para esta reacción de transferencia de un grupo es el piruvato. Otras enzimas utilizan la biotina para transferir grupos carboxilos a otras moléculas aceptoras. Obsérvese que la síntesis de biotina carboxilada requiere energía derivada del ATP; una característica general de muchos transportadores activados.

densación depende, en cada caso, de la hidrólisis de un nucleósido trifosfato. Y además, excepto para los ácidos nucleicos, no quedan grupos fosfato en las moléculas del producto final. Entonces, ¿cómo están acopladas a la síntesis de polímeros estas reacciones que liberan la energía de la hidrólisis del ATP?

Para cada tipo de macromolécula, existe una vía metabólica catalizada por enzimas que se parece a la que se ha descrito antes para la síntesis del aminoácido glutamina (véase Fig. 3-33). El principio es exactamente el mismo: el grupo OH que será eliminado en la reacción de condensación es activado antes mediante la formación de un enlace de alta energía con una segunda molécula. Sin embargo, los mecanismos utilizados para vincular la hidrólisis del ATP a la síntesis de proteínas y polisacáridos son más complejos que los utilizados para la síntesis de glutamina. En las vías biosintéticas que llevan a estas macromoléculas, una serie de intermediarios de alta energía generan el enlace final de alta energía que se rompe durante el paso de condensación (como se explica en el Cap. 7 para la síntesis de proteínas).

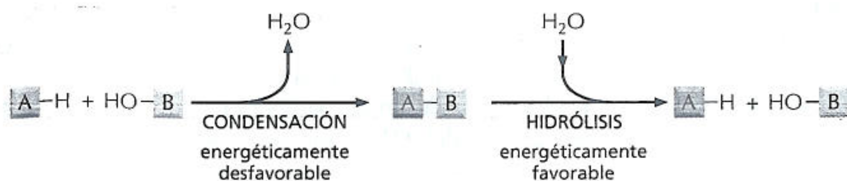


Figura 3-38. La condensación y la hidrólisis son reacciones opuestas. Las macromoléculas de la célula son polímeros formados por subunidades (o monómeros) mediante una reacción de condensación y se degradan mediante reacciones de hidrólisis. Todas las reacciones de condensación son energéticamente desfavorables.

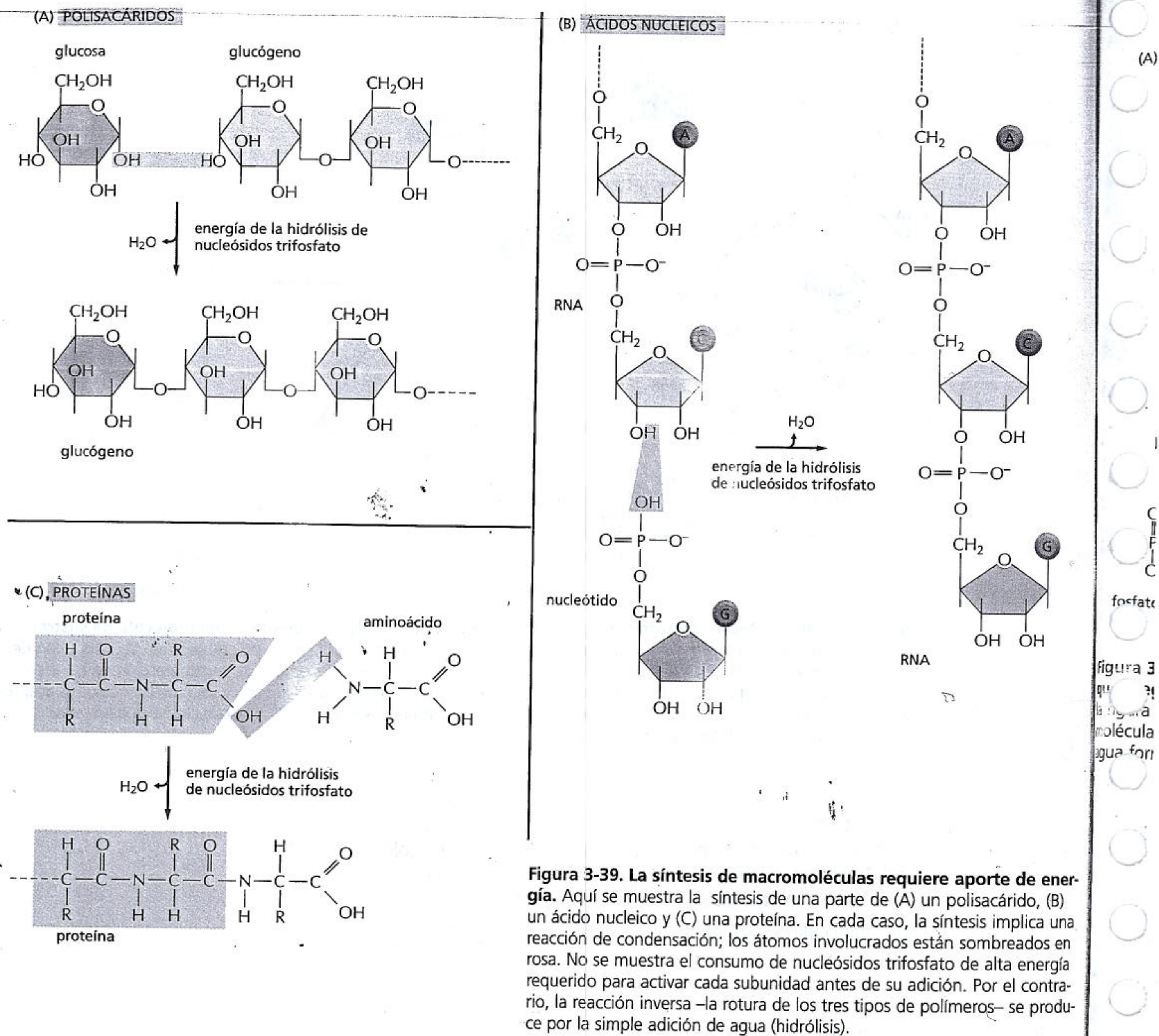


Figura 3-39. La síntesis de macromoléculas requiere aporte de energía. Aquí se muestra la síntesis de una parte de (A) un polisacárido, (B) un ácido nucleico y (C) una proteína. En cada caso, la síntesis implica una reacción de condensación; los átomos involucrados están sombreados en rosa. No se muestra el consumo de nucleósidos trifosfato de alta energía requerido para activar cada subunidad antes de su adición. Por el contrario, la reacción inversa –la rotura de los tres tipos de polímeros– se produce por la simple adición de agua (hidrólisis).

PREGUNTA 3-9

¿Cuál de las siguientes reacciones se producirá sólo si está acoplada a una segunda reacción energéticamente favorable?

A. glucosa + $O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$
B. $CO_2 + H_2O \rightarrow$ glucosa + O_2
C. nucleósidos trifosfato → DNA
D. bases nucleotídicas → nucleósidos trifosfato
E. ADP + P_i → ATP

Hay límites respecto de lo que cada transportador activado puede hacer para impulsar la biosíntesis. Por ejemplo, el ΔG de la hidrólisis del ATP a ADP y fosfato inorgánico (P_i) depende de las concentraciones de todos los reactivos y, en las condiciones habituales de la célula, tiene un valor de −11 a −13 kcal/mol. En principio, esta reacción de hidrólisis se puede utilizar para impulsar una reacción desfavorable con un ΔG de, quizá, +10 kcal/mol, siempre que se disponga de una vía de reacción adecuada. En cambio, para algunas reacciones biosintéticas, aún un ΔG de -13 kcal/mol puede no ser suficiente. En estos casos, se puede modificar la vía de la hidrólisis del ATP de manera que, inicialmente, produzca AMP y pirofosfato (PP_i), que es hidrolizado en solución en un paso posterior (Fig. 3-40). La totalidad del proceso deja disponible un cambio de energía libre total de aproximadamente -26 kcal/mol. La figura 3-41 ilustra una reacción biosintética importante, que es impulsada de esta manera, la síntesis de ácidos nucleicos (polinucleótidos).

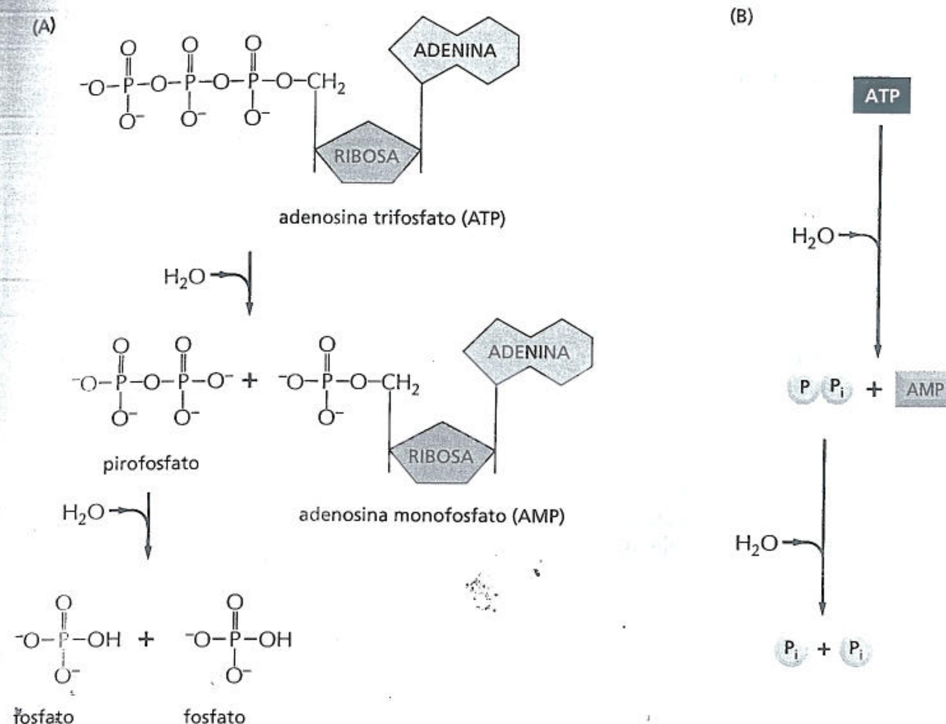


Figura 3-40. En una vía alternativa para la hidrólisis del ATP, al principio se forma pirofosfato que luego se hidroliza en solución. Esta vía libera cerca del doble de energía libre que la reacción de la figura 3-31. (A) En cada una de las dos reacciones sucesivas de hidrólisis, un átomo de oxígeno de la molécula de agua participante es retenido en los productos, mientras que los átomos de hidrógeno del agua forman iones hidrógeno libres, H+. (B) Forma resumida de toda la reacción.

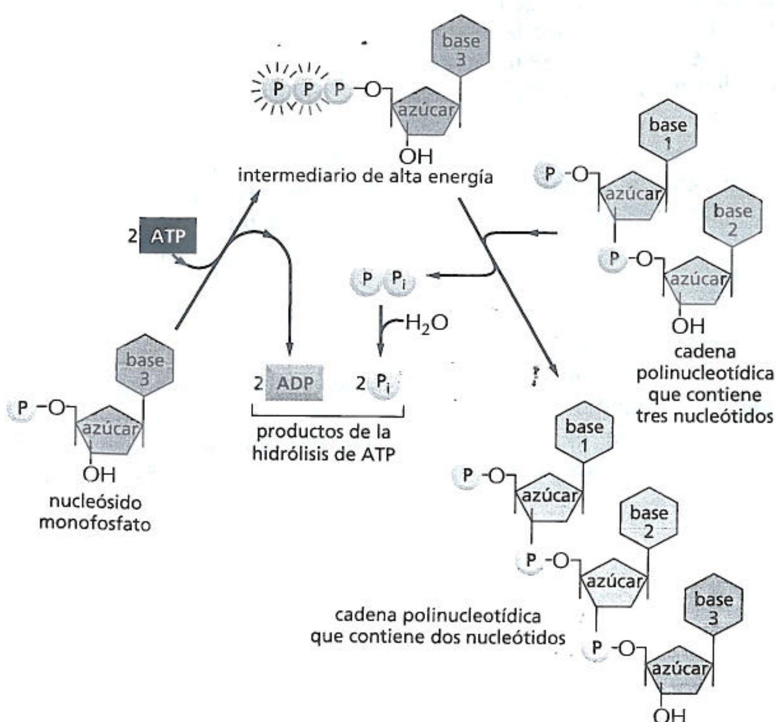


Figura 3-41. La síntesis de un polinucleótido, RNA o DNA, es un proceso de múltiples pasos impulsado por la hidrólisis del ATP. En el primer paso, un nucleósido monofosfato se activa mediante la transferencia secuencial de los grupos fosfato terminales de dos moléculas de ATP. El intermediario de alta energía formado –un nucleósido trifosfato– queda libre en la solución hasta que reacciona con el extremo en crecimiento de una cadena de RNA o DNA, con liberación de pirofosfato. La hidrólisis de este último a fosfato inorgánico es altamente favorable y ayuda a impulsar la totalidad de la reacción en la dirección de la síntesis de polinucleótidos.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Los organismos vivos tienen la capacidad de existir gracias a un aporte continuo de energía. Parte de esta energía se utiliza en funciones esenciales –reacciones necesarias para el metabolismo celular, el crecimiento y la reproducción– y el resto se pierde en forma de calor.
- Para la mayoría de los organismos vivos la fuente primaria de energía es el sol. Las plantas y las bacterias fotosintéticas usan la energía solar y producen moléculas orgánicas a partir del anhídrido carbónico. Los animales obtienen alimento comiendo plantas u otros animales que a su vez se alimentan de plantas.
- Cada una de las reacciones químicas que se producen en una célula está específicamente catalizada por una enzima. Una gran cantidad de enzimas diferentes trabajan en forma secuencial y generan cadenas de reacciones, denominadas vías metabólicas, cada una de las cuales desempeña una función diferente en la célula.
- Las reacciones catabólicas degradan las moléculas de los alimentos mediante vías oxidativas y liberan energía. Las reacciones anabólicas generan las diferentes moléculas complejas que necesita la célula y requieren aporte de energía. En la célula animal, tanto las moléculas precursoras como la energía necesaria para las reacciones anabólicas se obtienen por catabolismo.
- Las enzimas catalizan las reacciones uniéndose a las moléculas de un sustrato particular, de modo que disminuyen la energía de activación necesaria para formar y romper los enlaces covalentes específicos.
- La velocidad a la que una enzima cataliza una reacción depende de cuán rápidamente encuentra su sustrato, y de cuán rápidamente se forma el producto y después difunde. Estas velocidades varían ampliamente de una enzima a otra y se pueden medir luego de mezclar enzimas purificadas y sustratos en condiciones definidas.
- Las únicas reacciones químicas posibles son las que aumentan la cantidad total de desorden en el universo. La variación de energía libre de una reacción, ΔG, mide este desorden y debe ser menor que cero para que se produzca la reacción.
- El cambio de energía libre de una reacción química, ΔG, depende de las concentraciones de las moléculas que participan en la reacción y se puede calcular a partir de estas concentraciones si se conoce la constante de equilibrio (K) de la reacción (o el cambio de energía libre estándar, $\Delta G°$, de los reactivos).
- Las constantes de equilibrio rigen todas las asociaciones (y disociaciones) que se producen en la célula entre las macromoléculas y las moléculas pequeñas. Cuanto mayor sea la energía de unión entre dos moléculas, mayor será la constante de equilibrio y la probabilidad de que estas moléculas se encuentren unidas.
- Al crear una vía metabólica que acopla una reacción energéticamente favorable a otra energéticamente desfavorable, las enzimas producen transformaciones químicas que, de otra manera, serían imposibles de realizar.
- Un conjunto pequeño de moléculas transportadoras activadas, en particular ATP, el NADH y el NADPH, desempeñan un papel central en estos eventos de acoplamiento. El ATP transporta grupos fosfato ricos en energía, mientras que el NADH y el NADPH transportan electrones de alta energía.
- Las moléculas de los alimentos aportan los esqueletos de carbono que forman las moléculas más grandes. Los enlaces covalentes de estas moléculas más grandes se suelen formar en reacciones acopladas con cambios energéticamente favorables de los enlaces de moléculas transportadoras activadas, como el ATP y el NADPH.

PALABRAS CLAVE

acetil CoA
ADP, ATP
anabolismo
biosíntesis
cambio de energía libre estándar, $\Delta G°$
cambio de energía libre, ΔG
catabolismo
catálisis
catalizador
constante de equilibrio, K
difusión
energía de activación
energía libre, G
entropía
enzima
equilibrio
fotosíntesis
K_M
metabolismo
NAD^+, NADH
$NADP^+$, NADPH
número de recambio
oxidación
reacción acoplada
reducción
respiración
sustrato
transportador activado
$V_{máx}$

PREGUNTAS

PREGUNTA 3-10

¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta? Explique sus respuestas.

A. Algunas reacciones catalizadas por enzimas cesan por completo si la enzima está ausente.

B. Los electrones de alta energía (como los que se encuentran en los transportadores activados NADH y NADPH) se mueven con más rapidez alrededor del núcleo atómico.

C. La hidrólisis de ATP a AMP puede aportar alrededor del doble de energía que la hidrólisis de ATP a ADP.

D. Un átomo de carbono parcialmente oxidado tiene un diámetro algo menor que un átomo más reducido.

E. Algunas moléculas transportadoras activadas pueden transferir energía y un grupo químico a una segunda molécula.

F. La regla que indica que las oxidaciones liberan energía, mientras que las reducciones requieren aporte de energía, se aplica a todas las reacciones químicas, no sólo a las que se producen en las células vivas.

G. Los animales de sangre fría tienen una desventaja energética, porque liberan menos calor al ambiente que los animales de sangre caliente. Esto enlentece su capacidad de producir macromoléculas ordenadas.

H. Vincular la reacción X → Y a una segunda reacción energéticamente favorable Y → Z desplazará la constante de equilibrio de la primera reacción.

PREGUNTA 3-11

Considere la transición X → Y de la figura 3-18. Suponga que la única diferencia entre X e Y es la presencia de tres enlaces de hidrógeno en Y que están ausentes en X. ¿Cuál es la relación de X respecto de Y cuando la reacción está en equilibrio? Aproxime su respuesta utilizando el cuadro 3-1 (p. 96), con 1 kcal/mol como energía de cada enlace de hidrógeno. Si, en cambio, Y tuviera seis enlaces de hidrógeno que lo diferencian de X, ¿cómo se modificaría entonces la relación?

PREGUNTA 3-12

La proteína A se une a la proteína B y forma un complejo, AB. Una célula contiene una mezcla en equilibrio de la proteína A a una concentración de 1 μM, la proteína B a una concentración de 1 μM y la proteína AB (producida por la unión de A con B) también a una concentración de 1 μM.

A. Refiriéndose a la figura 3-19, calcule la constante de equilibrio para la reacción $A + B \rightleftharpoons AB$.

B. ¿Cuál sería la constante de equilibrio si A, B y AB estuvieran presentes en equilibrio a una concentración mucho más baja de 1 nM cada una?

C. ¿Cuántos enlaces de hidrógeno adicionales se necesitarían para mantener a A y B en estas concentraciones más bajas, de manera que una porción similar de las moléculas se encuentren en el complejo AB? (Recuerde que cada enlace de hidrógeno contribuye con alrededor de 1 kcal/mol.)

PREGUNTA 3-13

Analice el siguiente enunciado: "El hecho de que la ΔG de una reacción sea mayor, menor o igual que la $\Delta G°$ depende de las concentraciones de los compuestos que participan en la reacción".

PREGUNTA 3-14

A. ¿Cuántas moléculas de ATP se pueden generar como

máximo a partir de una molécula de glucosa si la oxidación completa de 1 mol de glucosa a CO_2 y H_2O produce 686 kcal, y la energía química útil disponible en el enlace fosfato de alta energía de 1 mol de ATP es de 12 kcal?

B. Como se verá en el capítulo 14 (cuadro 14-1), la respiración produce 30 moles de ATP a partir de 1 mol de glucosa. Compare este número con su respuesta de la parte (A). ¿Cuál es la eficiencia global de la producción de ATP a partir de la glucosa?

C. Si las células de su cuerpo oxidan 1 mol de glucosa, ¿cuánto aumentaría su temperatura corporal (suponga que su cuerpo está constituido por 75 kg de agua) si el calor no se disipara al medio ambiente? (Recuerde que una kilocaloría [kcal] se define como la cantidad de energía que aumenta la temperatura de 1 kg de agua en 1°C).

D. ¿Cuáles serían las consecuencias si las células de su cuerpo pudieran transformar la energía de las sustancias alimenticias con sólo un 20% de eficiencia? ¿Podría su cuerpo –así como está constituido actualmente– a) trabajar correctamente b) sobrecalentarse o c) congelarse?

E. Un ser humano en reposo hidroliza alrededor de 40 kg de ATP cada 24 horas. ¿Qué cantidad de glucosa debería oxidarse para producir esta cantidad de energía? (Ayuda: observe la estructura del ATP en la figura 2-23 para calcular su peso molecular; el peso atómico del H, C, N, O y P es 1, 12, 14, 16 y 31, respectivamente).

PREGUNTA 3-15

Un científico destacado sostiene haber aislado células mutantes que pueden transformar 1 molécula de glucosa en 57 moléculas de ATP. ¿Debería celebrarse este descubrimiento o usted supone que podría haber algún error en él? Explique su respuesta.

PREGUNTA 3-16

En una reacción simple A ⇌ A*, una molécula se presenta en dos formas interconvertibles que difieren en la energía libre estándar *G*° en 4,3 kcal/mol, y A* tiene *G*° más alta.

A. Utilice el cuadro 3-1 (p. 98) para determinar cuántas moléculas más estarán en el estado A* frente a las que estarán en el estado A en el equilibrio.
B. Si una enzima disminuye la energía de activación de la reacción en 2,8 kcal/mol, ¿cómo se modificaría la relación de A respecto de A*?

PREGUNTA 3-17

Una reacción de una vía biosintética de un solo paso que transforma un metabolito en tóxico muy nocivo de un hongo es energéticamente muy desfavorable (metabolito D tóxico). Normalmente, la reacción es impulsada por la hidrólisis del ATP. Suponga que una mutación de la enzima que cataliza la reacción le impide utilizar ATP, pero aun así le permite catalizar la reacción.

A. ¿Supone que podría ser seguro ingerir este organismo mutante? Fundamente su respuesta en una estimación acerca de cuánto menos tóxico produciría el organismo, suponiendo que la reacción esté en equilibrio y que la mayor parte de la energía almacenada en el ATP se utilice para impulsar la reacción desfavorable.

B. ¿Su respuesta sería diferente en el caso de otro hongo mutante cuya enzima acopla la reacción a la hidrólisis del ATP pero trabaja 100 veces más lentamente?

PREGUNTA 3-18

Considere los efectos de dos enzimas. La enzima A cataliza la reacción:



mientras que la enzima B cataliza la reacción:



Analice si las enzimas podrían ser beneficiosas o perjudiciales para las células.

PREGUNTA 3-19

Analice la siguiente afirmación: "Las enzimas y el calor se parecen en que ambos pueden acelerar reacciones que –aunque termodinámicamente factibles– no se producen a una velocidad apreciable porque requieren una energía de activación elevada. Por lo tanto, es probable que las enfermedades que se pueden tratar mediante la aplicación controlada de calor, como la ingestión de sopa de pollo caliente, se deban a la función insuficiente de una enzima".

PREGUNTA 3-20

La curva que se muestra en la figura E3-25/3-24 se describe mediante la ecuación de Michaelis-Menten:

$$\text{Velocidad} = V_{\text{máx}}\,[S] / ([S] + K_M)$$

¿Puede usted convencerse de que los hechos descritos cualitativamente en el texto están representados con exactitud por esta ecuación? En particular, ¿cómo se puede simplificar la ecuación cuando la concentración del sustrato está en uno de los siguientes rangos: A) la concentración del sustrato [S] es mucho menor que la K_M, B) la concentración del sustrato [S] es igual a la K_M, C) la concentración del sustrato [S] es mucho mayor que la K_M?

PREGUNTA 3-21

La velocidad de una reacción enzimática simple está dada por la ecuación estándar de Michaelis-Menten:

$$\text{Velocidad} = V_{\text{máx}}\,[S] / ([S] + K_M)$$

Si la $V_{\text{máx}}$ de una enzima es de 100 μmol/seg y la K_M es 1 mM, ¿con qué concentración de sustrato la velocidad será de 50 μmol/seg? Represente gráficamente la velocidad en función de la concentración de sustrato [S] para [S] = 0 a 10 mM. Conviértalo en un gráfico de 1/velocidad en función de 1/[S]. ¿Por qué este último gráfico es una línea recta?

PREGUNTA 3-22

Seleccione las opciones correctas y explique su decisión. Si [S] es mucho menor que K_M, el sitio activo de la enzima está predominantemente ocupado/desocupado. Si [S] es mucho mayor que K_M, la velocidad de la reacción está limitada por la concentración de enzima/sustrato.

PREGUNTA 3-23

A. Las velocidades de la reacción S → P catalizada por la

enzima E se determinaron en condiciones tales que sólo se producía muy poca cantidad de producto. Se midieron los siguientes datos:

Concentración del sustrato (μM)	Velocidad de la reacción (μmol/min)
0,08	0,15
0,12	0,21
0,54	0,7
1,23	1,1
1,82	1,3
2,72	1,5
4,94	1,7
10,00	1,8

epresente en un gráfico los datos previos. Utilice este gráfico para calcular la K_M y $V_{máx}$ de esta enzima.

Recuerde a partir de lo expuesto en Biología xperimental (pp. 101-103) que para determinar estos valores con más precisión se suele recurrir a un truco que transforma la ecuación de Michaelis-Menten de manera tal que es posible representar gráficamente los datos como una línea recta. Un reordenamiento simple da por resultado:

$$1/\text{velocidad} = (K_M/V_{máx})\ (1/[S] + 1/\ V_{máx}$$

que es una ecuación del tipo $y = ax + b$. Calcule 1/velocidad y 1/[S] para los datos de la parte (A) y luego, represente gráficamente 1/velocidad en función de 1/[S] en un nuevo gráfico. Determine K_M y $V_{máx}$ desde la intersección de la línea con el eje, donde 1/[S] = 0, combinado con la pendiente de la línea. ¿Sus resultados coinciden con las estimaciones realizadas a partir del primer gráfico de los datos originales?

C. En la parte (A), se afirma que sólo se formó una cantidad muy pequeña de producto en las condiciones en que se realizó la reacción. ¿Por qué esto es importante?

D. Suponga que la enzima está regulada de manera que, después de una fosforilación, su K_M aumenta en un factor de 3 sin modificar su $V_{máx}$. ¿Esto es una activación o una inhibición? Represente gráficamente los datos que esperaría hallar para la enzima fosforilada en el gráfico (A) y en el gráfico (B).

CAPÍTULO CUATRO 4

Estructura y función de las proteínas

LA FORMA Y LA ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

CÓMO FUNCIONAN LAS PROTEÍNAS

CÓMO SE CONTROLAN LAS PROTEÍNAS

CÓMO SE ESTUDIAN LAS PROTEÍNAS

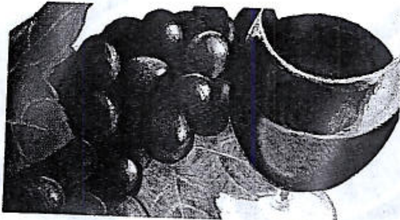
uando se examina una célula con el microscopio o se analiza su actividad eléc-ica o bioquímica, se está observando, en esencia, el trabajo de las proteínas. Las oteínas son los componentes a partir de los cuales se ensamblan las células, y presentan la mayor parte de su masa seca. Pero, además de proporcionarle ma y estructura a la célula, las proteínas también realizan la mayor parte de s innumerables funciones. Las **enzimas** promueven las reacciones químicas racelulares mediante la provisión de superficies moleculares intrincadas, mol-adas por salientes y hendiduras que pueden retener o repeler moléculas especí-as. Las proteínas incluidas en la membrana plasmática forman los canales y las mbas que controlan el pasaje de nutrientes y de otras moléculas pequeñas hacia interior o el exterior de la célula. Otras proteínas llevan mensajes de una célu-a otra, o actúan como integradoras de señales que transmiten información sde la membrana hacia el núcleo de una célula. Incluso otras son como peque-as máquinas moleculares con partes móviles: algunas proteínas, como la cinesi-a, impulsan los orgánulos a través del citoplasma; otras, como las helicasas, senrollan moléculas de DNA bicatenario. Las proteínas especializadas también túan como anticuerpos, toxinas, hormonas, moléculas anticongelantes, fibras ásticas o generadores de luminiscencia. Antes de intentar comprender cómo túan los genes, cómo se contrae el músculo, cómo conducen los nervios la elec-icidad, cómo se desarrolla un embrión o cómo funciona nuestro cuerpo, se deben nocer las proteínas.

a multiplicidad de funciones que desempeñan las proteínas (Lámina 4-1, p. 120) s el resultado del enorme número de formas que adoptan: la estructura dicta la nción. Por lo tanto, la descripción de estas notables macromoléculas se inicia on el análisis de sus estructuras tridimensionales y de las propiedades que éstas onfieren. A continuación, se comenta cómo funcionan: de qué modo las enzimas atalizan las reacciones químicas, cómo algunas proteínas actúan como interrup-ores moleculares y cómo otras generan movimientos coherentes. Después, se xamina cómo controlan las células la actividad y la localización de las proteínas ue contienen. Por último, se presenta una breve descripción de las técnicas que

LÁMINA 4-1 Unos pocos ejemplos de algunas funciones generales de las proteínas

ENZIMA

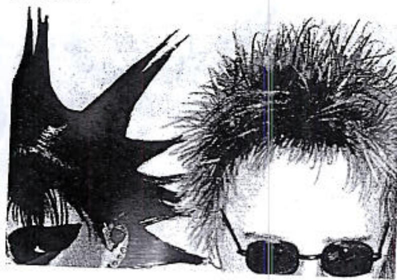
Función: cataliza la formación o la rotura de enlaces covalentes.



Ejemplos: las células vivas contienen miles de enzimas diferentes, cada una de las cuales cataliza (acelera) una reacción en particular. Los ejemplos son los siguientes: *triptófano sintetasa*, elabora al aminoácido triptófano; *pepsina*, degrada proteínas de la dieta en el estómago; *ribulosa bifosfato carboxilasa*, ayuda a convertir el dióxido de carbono en azúcares, en las plantas; *DNA polimerasa*, copia el DNA; *proteincinasa*, agrega un grupo fosfato a una molécula de proteína.

PROTEÍNA ESTRUCTURAL

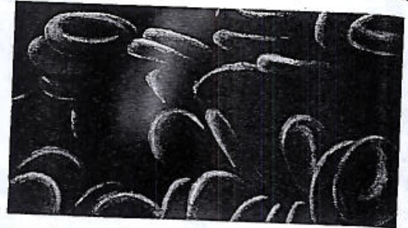
Función: aporta soporte mecánico a células y tejidos.



Ejemplos: en el exterior de las células, *colágeno* y *elastina* son componentes comunes de la matriz extracelular y forman fibras de tendones y ligamentos. Dentro de las células, la *tubulina* forma microtúbulos rígidos y duros, y la *actina* forma filamentos que sirven de sostén a la membrana plasmática; la α -*queratina* forma fibras que refuerzan las células epiteliales y es la principal proteína en el pelo y los cuernos.

PROTEÍNA DE TRANSPORTE

Función: transporta moléculas pequeñas o iones.



Ejemplos: en el torrente sanguíneo, la *albúmina sérica* transporta lípidos, la *hemoglobina* transporta oxígeno, y la *transferrina* transporta iones. Muchas proteínas incluidas en las membranas celulares transportan iones o moléculas pequeñas a través de la membrana. Por ejemplo, la proteína bacteriana *bacteriorrodopsina* es una bomba de protones activada por la luz que transporta iones H^+ fuera de la célula; el *transportador de glucosa* lleva la glucosa al interior y al exterior de los hepatocitos; y una *bomba de* Ca^{2+} de las células musculares bombea los iones de calcio necesarios para generar la contracción muscular hacia el retículo endoplasmático, donde son almacenados.

PROTEÍNA MOTORA

Función: genera movimiento en células y tejidos.



Ejemplos: la *miosina* de las células musculares esqueléticas proporciona la fuerza motriz para los movimientos humanos; la *cinesina* interactúa con los microtúbulos desplazando orgánulos alrededor de la célula; la *dineína* permite el movimiento de cilios y flagelos.

PROTEÍNA DE ALMACENAMIENTO

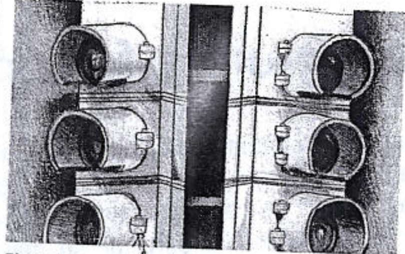
Función: almacena moléculas pequeñas o iones.



Ejemplos: el hierro se almacena en el hígado mediante la unión a la pequeña proteína *ferritina*; la *ovoalbúmina* de la clara del huevo se utiliza como una fuente de aminoácidos para el desarrollo del embrión de ave; la *caseína* de la leche es una fuente de aminoácidos para las crías de mamíferos.

PROTEÍNA SEÑAL

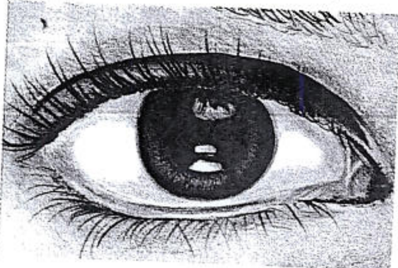
Función: transporta señales entre distintas células.



Ejemplos: muchas de las hormonas y los factores de crecimiento que coordinan las funciones fisiológicas en los animales son proteínas; la *insulina*, por ejemplo, es una proteína pequeña que controla los niveles de glucosa en la sangre; la *netrina* atrae a las células nerviosas en crecimiento en una dirección específica en el embrión en desarrollo; el *factor de crecimiento nervioso* (NGF) estimula el crecimiento de axones en algunos tipos de células nerviosas; el *factor de crecimiento epidérmico* (EGF) estimula el crecimiento y la división de las células epiteliales.

PROTEÍNA RECEPTORA

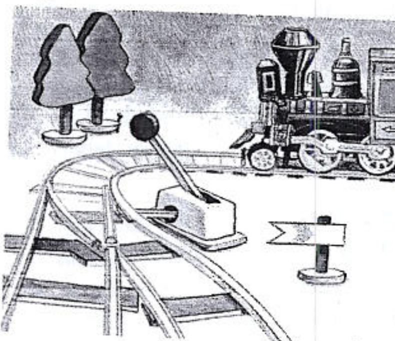
Función: detecta señales y las transmite a la maquinaria de respuesta de la célula.



Ejemplos: la *rodopsina* de la retina detecta la luz; el receptor de *acetilcolina* de la membrana de una célula muscular recibe señales químicas liberadas desde una terminación nerviosa; el receptor de *insulina* le permite a las células hepáticas responder a la insulina mediante la captación de la glucosa; el receptor *adrenérgico* en las células musculares cardíacas aumenta la velocidad de los latidos cardíacos cuando la adrenalina se une a éste.

PROTEÍNA REGULADORA DE GENES

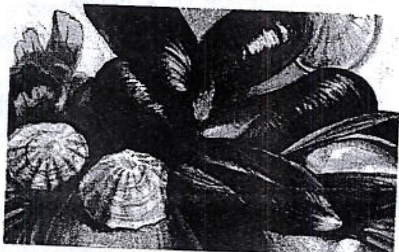
Función: se une al DNA y activa o desactiva los genes.



Ejemplos: el *represor de lactosa* de las bacterias silencia a los genes de las enzimas que degradan el azúcar lactosa; muchas *proteínas de homeodominio* diferentes actúan como interruptores que controlan el desarrollo en los organismos multicelulares, incluido el hombre.

PROTEÍNA DE PROPÓSITOS ESPECIALES

Función: altamente variable.



Ejemplos: los organismos fabrican muchas proteínas con propiedades altamente especializadas. Estas moléculas ilustran el extraordinario rango de funciones que pueden cumplir las proteínas. Las proteínas *anticongelantes* de los peces del Ártico y de la Antártida protegen su sangre del congelamiento; la *proteína fluorescente* verde de la medusa emite una luz verde; la *monelina*, una proteína hallada en una planta de África, tiene un gusto intensamente dulce; los mejillones y otros organismos marinos secretar *proteínas adhesivas* que los adhieren firmemente a las rocas, incluso cuando están sumergidos en agua de mar.

utilizan los biólogos para trabajar con proteínas, incluidos los métodos para su purificación –a partir de tejidos o de cultivos celulares– y la determinación de su estructura.

LA FORMA Y LA ESTRUCTURA DE LAS PROTEÍNAS

Desde el punto de vista químico, las proteínas son las moléculas conocidas de mayor complejidad estructural y refinamiento funcional. Esto quizás no sea sorprendente si se considera que la estructura y la actividad de cada proteína ha sido desarrollada y puesta a punto durante millones de años de historia evolutiva. Se comienza por considerar de qué manera la posición de cada aminoácido de la larga cadena que constituye una proteína determina su forma tridimensional, una estructura estabilizada por interacciones no covalentes entre distintas partes de la molécula. El conocimiento de la estructura de la proteína en el nivel atómico permitirá descubrir cómo la forma precisa de cada proteína determina su función en la célula.

La forma de una proteína es especificada por su secuencia de aminoácidos

Las proteínas, como se puntualizó en el capítulo 2, se ensamblan a partir de un grupo de 20 aminoácidos diferentes, cada uno con distintas propiedades químicas. Una molécula de **proteína** está formada por una larga cadena de esos aminoácidos, cada uno ligado a su vecino por un enlace peptídico covalente (Fig. 4-1). Por lo tanto, las proteínas también se denominan **polipéptidos** o **cadenas polipeptídicas**. Cada tipo de proteína tiene un orden singular de aminoácidos, denominado **secuencia de aminoácidos**, exactamente la misma de una molécula a otra del mismo tipo. Una molécula de insulina, por ejemplo, tiene la misma secuencia de aminoácidos que todas las demás moléculas de insulina. Se identificaron miles de proteínas diferentes y cada una tiene una secuencia de aminoácidos característica.

Cada cadena polipeptídica consta de un esqueleto que sostiene las distintas cadenas laterales de aminoácidos. El **esqueleto polipeptídico** está formado por la secuencia repetitiva de los átomos centrales de los aminoácidos que forman la cadena. Desde este esqueleto repetitivo, se proyecta cualquiera de las **cadenas laterales** de los 20 aminoácidos diferentes: las partes de los aminoácidos que no

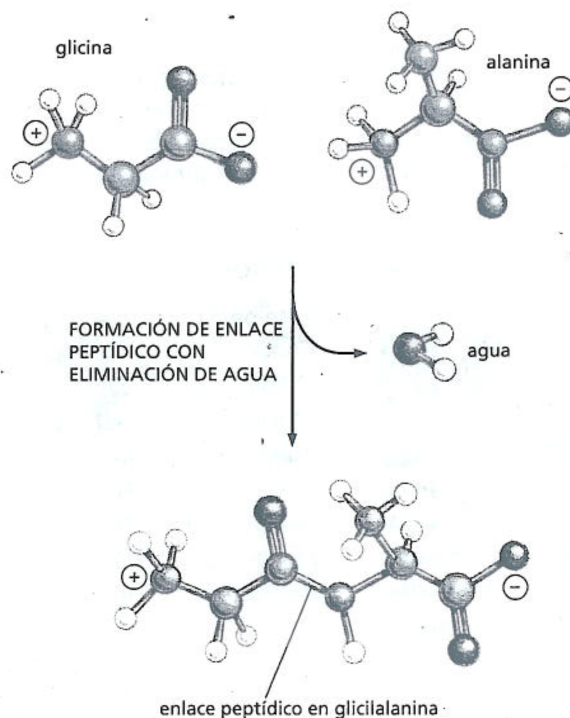
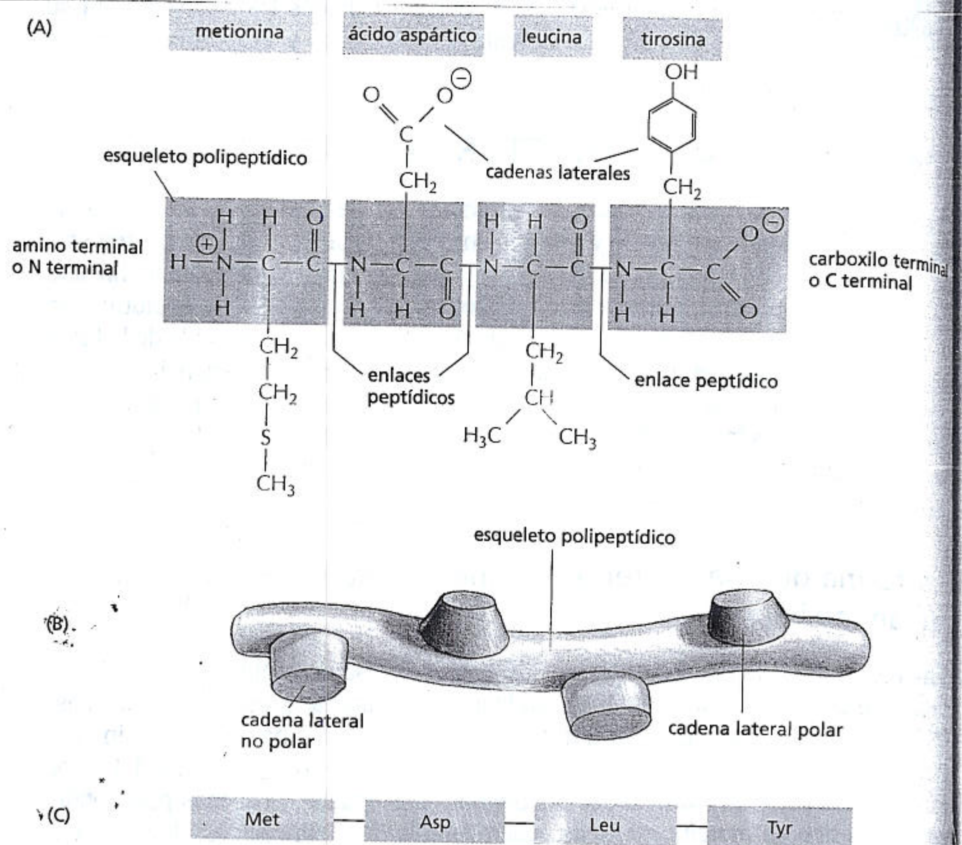


Figura 4-1. Los aminoácidos se unen entre sí mediante enlaces peptídicos. Se forma un enlace peptídico covalente cuando el átomo de carbono del grupo carboxilo de un aminoácido comparte electrones con el átomo de nitrógeno (*azul*) de un grupo amino de un segundo aminoácido. Durante esta reacción de condensación, se forma una molécula de agua. En este diagrama, los átomos de carbono son *grises*; los de nitrógeno, *azules*; los de oxígeno, *rojos*; y los de hidrógeno, *blancos*.

Figura 4-2. Una proteína está formada por aminoácidos unidos entre sí en una cadena polipeptídica. (A) Los aminoácidos unidos mediante la reacción ilustrada en la figura 4-1 forman un esqueleto polipeptídico de estructura repetitiva (recuadros *grises*) del que se proyectan las cadenas laterales de los aminoácidos. Aquí se muestra un polipéptido pequeño de sólo cuatro aminoácidos. Por lo general, las proteínas están formadas por cadenas de varios cientos de aminoácidos. Los dos extremos de cada cadena polipeptídica son químicamente diferentes: el extremo que lleva al grupo amino libre (NH_3^+, también escrito NH_2) se denomina amino, o N- terminal; y el extremo que lleva el grupo carboxilo libre (COO^-, también escrito COOH) es el carboxilo, o C- terminal. (B) Las posiciones de las diferentes cadenas laterales químicamente distintas, por ejemplo polares y no polares, confieren a cada proteína sus propiedades individuales. (C) La secuencia de aminoácidos de una proteína se presenta siempre en la dirección N a C y se lee de izquierda a derecha.



intervienen en la formación del enlace peptídico (Fig. 4-2). Estas cadenas laterales le otorgan a cada aminoácido sus propiedades particulares. Algunos son no polares e hidrófobos ("le temen al agua"), otros tienen carga negativa o positiva, otros son químicamente reactivos, etc. La lámina 2-5 (pp. 72-73) presenta las estructuras atómicas de los 20 aminoácidos de las proteínas, y la **figura 4-3**, una breve lista de aminoácidos, con sus abreviaturas.

Las cadenas polipeptídicas largas son muy flexibles: muchos de los enlaces covalentes que unen átomos de carbono de una cadena extensa de aminoácidos permiten la rotación libre de los átomos que vinculan. Por lo tanto, las proteínas, en principio, se pueden plegar en una enorme cantidad de formas. Cada cadena plegada esta restringida por numerosos grupos diferentes de enlaces no covalentes débiles que se forman dentro de las proteínas. En estos enlaces, participan los átomos del esqueleto polipeptídico, así como los átomos de las cadenas laterales de los aminoácidos. Los enlaces no covalentes que ayudan a mantener la forma

AMINOÁCIDO			CADENA LATERAL
Ácido aspártico	Asp	D	negativa
Ácido glutámico	Glu	E	negativa
Arginina	Arg	R	positiva
Lisina	Lys	K	positiva
Histidina	His	H	positiva
Asparagina	Asn	N	polar no cargada
Glutamina	Gln	Q	polar no cargada
Serina	Ser	S	polar no cargada
Treonina	Thr	T	polar no cargada
Tirosina	Tyr	Y	polar no cargada

AMINOÁCIDOS POLARES (hidrófilos)

AMINOÁCIDO			CADENA LATERAL
Alanina	Ala	A	no polar
Glicina	Gly	G	no polar
Valina	Val	V	no polar
Leucina	Leu	L	no polar
Isoleucina	Ile	I	no polar
Prolina	Pro	P	no polar
Fenilalanina	Phe	F	no polar
Metionina	Met	M	no polar
Triptófano	Trp	W	no polar
Cisteína	Cys	C	no polar

AMINOÁCIDOS NO POLARES (hidrófobos)

Figura 4-3. En las proteínas, se encuentran veinte aminoácidos diferentes. Se presentan las abreviaturas de tres letras y de una letra. Como se muestra, hay un número igual de cadenas laterales polares y no polares. Para las estructuras atómicas, véase lámina 2-5 (pp. 72-73).

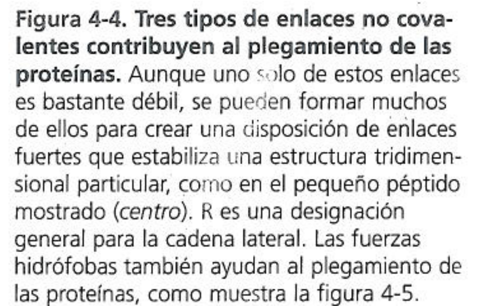


Figura 4-4. Tres tipos de enlaces no covalentes contribuyen al plegamiento de las proteínas. Aunque uno solo de estos enlaces es bastante débil, se pueden formar muchos de ellos para crear una disposición de enlaces fuertes que estabiliza una estructura tridimensional particular, como en el pequeño péptido mostrado (*centro*). R es una designación general para la cadena lateral. Las fuerzas hidrófobas también ayudan al plegamiento de las proteínas, como muestra la figura 4-5.

de las proteínas son los enlaces de hidrógeno, las atracciones electrostáticas y las atracciones de van der Waals, que se describieron en el capítulo 2 (véase Lámina 2-7, pp. 76-77). Como los enlaces no covalentes individuales son mucho más débiles que los enlaces covalentes, se necesitan muchos enlaces no covalentes para mantener estrechamente unidas dos regiones de una cadena polipeptídica. Por lo tanto, la estabilidad de cada forma plegada estará afectada por las fuerzas combinadas de gran número de enlaces no covalentes (Fig. 4-4).

Una cuarta fuerza débil, la interacción hidrófoba, también desempeña un papel central en la determinación de la forma de una proteína. En un medio acuoso, las moléculas hidrófobas, incluidas las cadenas laterales no polares de determinados aminoácidos, tienden a unirse minimizando su efecto disruptivo sobre la red de enlaces de hidrógeno de las moléculas de agua circundantes (véase Lámina 2-2, pp. 66-67). Por lo tanto, un factor importante que rige el plegamiento de cualquier proteína es la distribución de sus aminoácidos polares y no polares. Las cadenas laterales no polares (hidrófobas) –que pertenecen a aminoácidos como fenilalanina, leucina, valina y triptófano– tienden a agruparse en el interior de una proteína plegada (como se observa en la coalescencia de gotitas hidrófobas de aceite para formar una gota grande). Protegidas dentro de la proteína plegada, las cadenas laterales hidrófobas pueden evitar el contacto con el citosol acuoso que las rodea dentro de una célula. Por el contrario, las cadenas laterales polares –como las que pertenecen a la arginina, glutamina e histidina– tienden a disponerse cerca de la parte externa de la proteína plegada, donde pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua y con otras moléculas polares (Fig. 4-5). Cuando los aminoácidos polares quedan inmersos dentro de la proteína, suelen estar unidos por enlaces de hidrógeno a otros aminoácidos polares o al esqueleto polipeptídico (Fig. 4-6).

Las proteínas se pliegan en una conformación de mínima energía

Cada tipo de proteína tiene una estructura tridimensional particular, que está determinada por el orden de los aminoácidos de su cadena. La estructura plegada

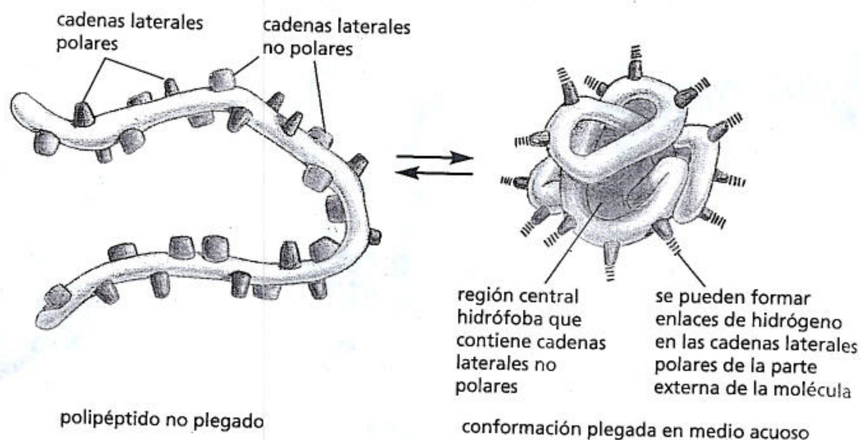


Figura 4-5. Las fuerzas hidrófobas contribuyen al plegamiento de las proteínas en conformaciones compactas. Las cadenas laterales de los aminoácidos polares tienden a reunirse en el exterior de la proteína plegada, donde pueden interactuar con el agua; las cadenas laterales de los aminoácidos no polares quedan en el interior formando centros hidrófobos compactos de átomos ocultos del agua. En este dibujo muy esquemático, la proteína contiene sólo alrededor de 30 aminoácidos.

final, o **conformación**, que adopta cualquier cadena polipeptídica es regida por consideraciones energéticas: una proteína se suele plegar en la forma en la que la energía libre (*G*) disminuye al mínimo. El plegamiento de las proteínas se estudió en el laboratorio utilizando proteínas altamente purificadas. Una proteína se puede desplegar, o *desnaturalizar*, mediante el tratamiento con solventes que rompen las interacciones no covalentes que mantienen plegada la cadena. Este tratamiento convierte a la proteína en una cadena polipeptídica flexible que ha perdido su forma natural. Cuando se elimina el solvente desnaturalizador, a menudo la proteína se vuelve a plegar de manera espontánea, o *se renaturaliza*, en su conformación original (Fig. 4-7). El hecho de que una proteína renaturalizada pueda, por sí misma, recuperar la conformación correcta indica que toda la información necesaria para especificar su forma tridimensional está contenida en la secuencia de aminoácidos.

Cada proteína se pliega normalmente en una única conformación estable. Sin embargo, esta conformación con frecuencia cambia ligeramente cuando la proteína interactúa con otras moléculas de la célula. Como se verá más adelante en este capítulo, este cambio de forma es crucial para la función de la proteína.

Cuando las proteínas se pliegan de modo incorrecto, a veces forman agregados que pueden dañar las células e, incluso, tejidos enteros. Los agregados proteicos son la base de una serie de trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Huntington. Las enfermedades por priones –p. ej.,

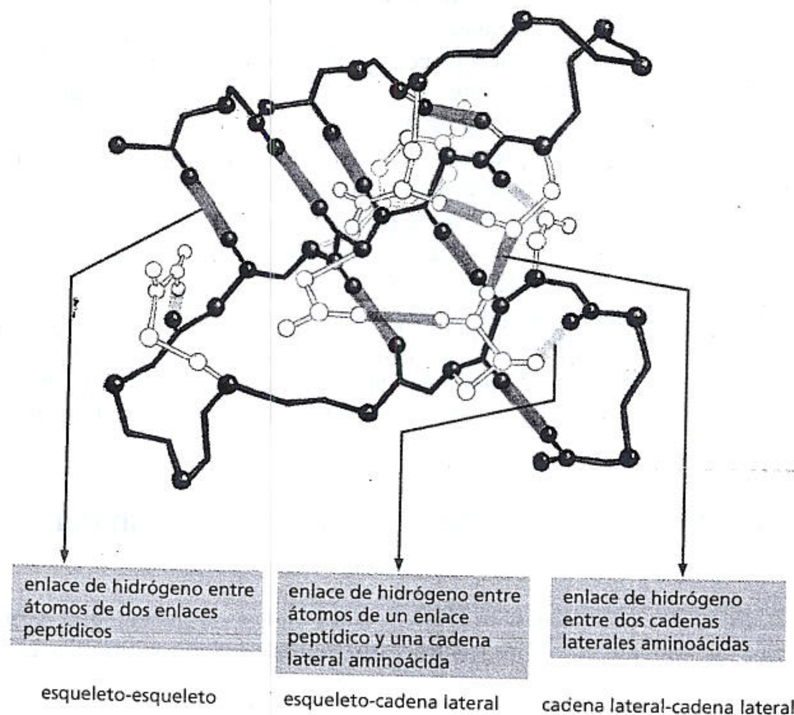


Figura 4-6. Dentro de una molécula proteica, los enlaces de hidrógeno ayudan a estabilizar su forma plegada. Se forma un gran número de enlaces de hidrógeno entre regiones adyacentes de la cadena polipeptídica plegada. La estructura representada es una parte de la enzima lisozima. El esqueleto polipeptídico está coloreado en *verde*. Los enlaces de hidrógeno entre los átomos de la cadena se ilustran en *rojo*; aquellos entre átomos de un enlace peptídico y una cadena lateral, en *amarillo*; y aquellos entre los átomos de dos cadenas laterales, en *azul*. Obsérvese que la misma cadena lateral aminoácida puede formar varios enlaces de hidrógeno. (De C.K. Mathews, K.E. van Holde y K.G. Ahern, *Biochemistry*, 3ª ed. San Francisco: Benjamín Cummings, 2000).

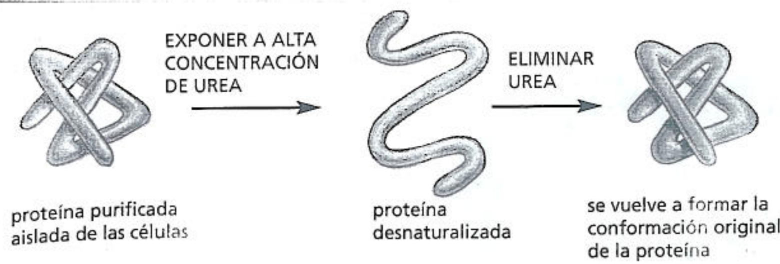


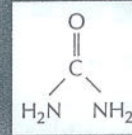
Figura 4-7. Las proteínas desnaturalizadas pueden recuperar sus formas naturales. Este tipo de experimento demuestra que la conformación de una proteína está determinada únicamente por su secuencia de aminoácidos. La renaturalizacion funciona de manera óptima en las proteínas pequeñas.

la encefalopatía espongiforme ovina, la encefalopatía espongiforme bovina (EEB, o enfermedad de la "vaca loca") y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (CJD) en los seres humanos– también son causadas por agregados proteicos. La proteína de los priones, PrP, puede adoptar una forma de plegamiento incorrecto que es considerada "contagiosa", ya que puede hacer que las proteínas priónicas plegadas apropiadamente del cerebro infectado adopten la conformación anormal (Fig. 4-8). Esto permite que la forma mal plegada de la PrP se propague con rapidez de una célula a otra, lo que causa la muerte de los animales o de los seres humanos infectados.

Aunque una cadena proteica se puede plegar en su conformación correcta sin ayuda externa, el plegamiento de una proteína en una célula viva en general es asistido por proteínas especiales, denominadas *chaperonas moleculares*. Estas proteínas se unen a cadenas parcialmente plegadas y las ayudan a plegarse por la vía energéticamente más favorable, como se analizará en el capítulo 7. Las chaperonas son vitales en las condiciones de hacinamiento del citoplasma, ya que evitan que las cadenas proteicas recién sintetizadas se asocien en forma incorrecta. Sin embargo, la forma tridimensional final de la proteína es especificada, aun así, por su secuencia de aminoácidos; las chaperonas sólo hacen que el proceso de plegamiento sea más eficiente y fiable.

PREGUNTA 4-1

La urea utilizada en el experimento que se muestra en la figura 4-7 es una molécula que rompe la red de moléculas de agua unidas por enlaces de hidrógeno. ¿Por qué las concentraciones altas de urea podrían desplegar las proteínas? Aquí se muestra la estructura de la urea.



Las proteínas adoptan una amplia variedad de formas complejas

Las proteínas se encuentran entre las macromoléculas con mayor diversidad estructural de la célula. Aunque su tamaño varía de alrededor de 30 aminoácidos a más de 10.000, la vasta mayoría tiene entre 50 y 2.000 aminoácidos de longitud. Las proteínas pueden ser globulares o fibrosas; pueden formar filamentos, láminas, anillos o esferas. La **figura 4-9** presenta ejemplos de proteínas cuyas estructuras exactas se conocen. Más adelante en este capítulo y en todo el libro, se encontrarán muchas de estas proteínas.

La resolución de la estructura de una proteína suele comenzar con la determinación de su secuencia de aminoácidos, una tarea que se puede realizar de varias maneras. Durante muchos años, la secuenciación proteica se realizó analizando directamente los aminoácidos de la proteína purificada; la primera proteína secuenciada fue la hormona *insulina*, en 1955. En la actualidad, se puede determinar el orden de los aminoácidos de una proteína con mucha mayor facilidad mediante la secuenciación del gen que la codifica (véase capítulo 10). Una vez que se conoce el orden de los nucleótidos del DNA que codifica una proteína, esta información se puede convertir en una secuencia de aminoácidos aplicando el código genético (véase capítulo 7). Ya se determinaron de este modo las secuencias de aminoácidos de millones de proteínas, que se han reunido en grandes bases de datos electrónicas que permiten que los usuarios obtengan la secuencia de aminoácidos de cualquier proteína casi en forma instantánea.

(A) la proteína priónica puede adoptar una forma anormal, mal plegada



(B) la proteína mal plegada puede inducir la formación de agregados proteicos

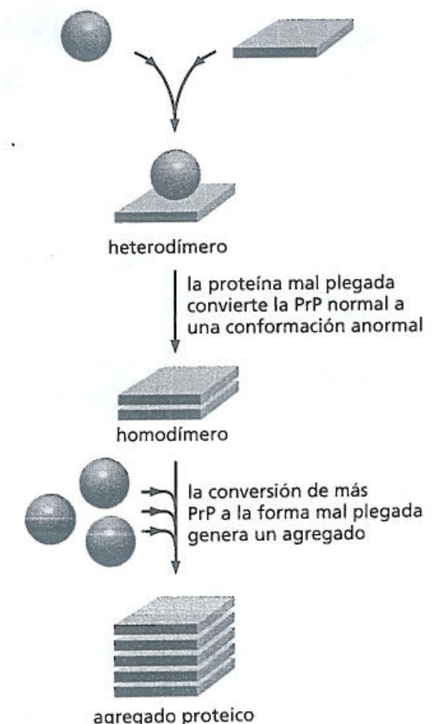


Figura 4-8. Las enfermedades por priones son causadas por proteínas raras cuyo plegamiento inadecuado es infeccioso. La proteína de mamífero PrP es la mejor conocida de este tipo, pero existen otros ejemplos. (A) La proteína sufre un raro cambio de conformación que genera una forma priónica anormalmente plegada. (B) La forma anormal causa la conversión de proteínas PrP normales del cerebro del hospedador a la forma mal plegada, que genera agregados proteicos que alteran la función cerebral y provocan enfermedad.

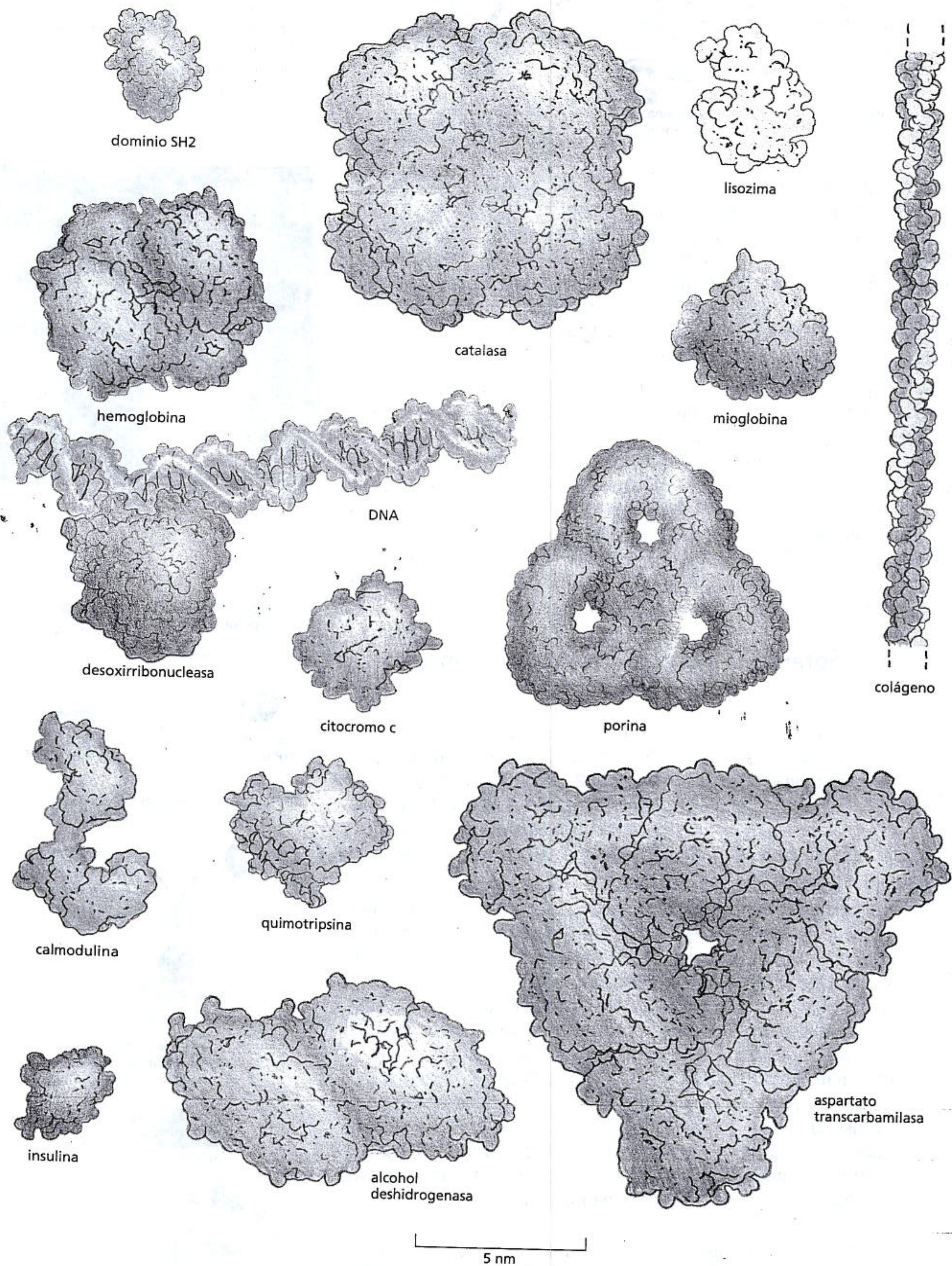


Figura 4-9. Las proteínas adoptan formas y tamaños variados. Cada polipéptido plegado se muestra como un modelo espacial, representado en la misma escala. En el *ángulo superior izquierdo*, se observa el dominio SH_2, caracterizado con más detalle en la lámina 4-2 (pp. 128-129). Con fines comparativos, se ilustra parte de una molécula de DNA (*gris*). (De David S. Goodsell, *Our Molecular Nature*. New York: Springer-Verlag, 1996. Con autorización de Springer Science and Business Media).

Aunq
prede
na –la
proteí
copia
20.00
tridim
Como
se inte
de las
pliega
–como
funcior
to polip
las cad
tres hil
imágen
vement
te c
Para vi
pueden
patrones

La heli

Cuar
teica
proteína
ron
El prim
proteína
uñas
halló
na, el pr
grieg
ción
Estos dos
de lo
leto polip
formació
rente
ta una fo
rísticas es
senta

Aunque toda la información necesaria para que una cadena polipeptídica se pueda plegar está contenida en su secuencia de aminoácidos, todavía no se sabe cómo predecir de manera fiable la conformación tridimensional detallada de una proteína –la disposición espacial de sus átomos– a partir de su secuencia sola. Por ahora, la única manera de descubrir el patrón de plegamiento preciso de cualquier proteína es por experimentación, mediante cristalografía de rayos X o espectroscopia de resonancia magnética (RM), como se analiza más adelante en este capítulo. Hasta ahora, se han analizado por completo las estructuras de alrededor de 20.000 proteínas mediante estas técnicas. La mayor parte tiene una conformación tridimensional tan intrincada e irregular que la descripción detallada de su estructura requeriría un capítulo entero.

Como la estructura de una proteína grande puede ser abrumadora para estudiar, se intentará ilustrar la complejidad de la conformación proteica examinando la estructura de un *dominio proteico* más pequeño. Como se mencionó, la mayoría de las proteínas están formadas por múltiples dominios, cada uno de los cuales se pliega en una conformación tridimensional compacta. En la **lámina 4-2** (pp. 128-129), se presentan cuatro ilustraciones diferentes de SH_2, un domino proteico que –como parte de las proteínas que intervienen en la señalización celular– cumple funciones importantes en las células eucariontes. Formado a partir de una cadena de 100 aminoácidos, la estructura se representa como (A) un modelo de esqueleto polipetídico, (B) un modelo acintado, (C) un modelo filamentoso que incluye las cadenas laterales de los aminoácidos y (D) un modelo espacial. Como se indica en la lámina, cada modelo destaca diferentes características del polipéptido. Las tres hileras horizontales muestran el dominio SH_2 en distintas orientaciones, y las imágenes están coloreadas para distinguir la trayectoria de la cadena polipeptídica, desde su N-terminal *(púrpura)* hasta su C-terminal *(rojo)*. Se describirán brevemente los distintos elementos estructurales de este dominio proteico.

A partir de la lámina 4-2, se puede observar con claridad cuán extraordinariamente compleja es la conformación proteica, aun de un dominio pequeños como SH_2. Para visualizar estructuras tan complicadas, los científicos desarrollaron varios métodos gráficos y computarizados que generan una variedad de imágenes de proteínas, algunas de las cuales se ilustran en la lámina 4-2. Estas imágenes se pueden desplegar y rotar para visualizar todos los aspectos de la estructura (Película 4.1). Además, la descripción y presentación de estructuras proteicas tan complejas se volvió más fácil al reconocer que estas conformaciones tienen varios patrones de plegamiento comunes de base, como se analizará a continuación.

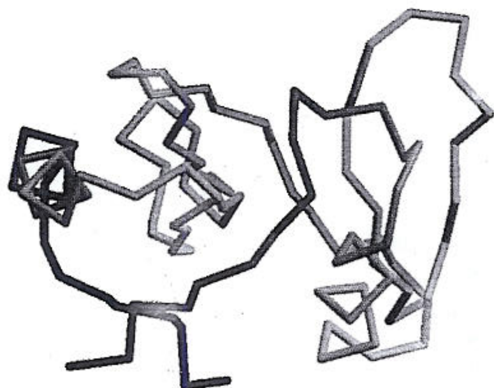
La hélice-α y la hoja β son patrones de plegamiento comunes

Cuando se comparan las estructuras tridimensionales de muchas moléculas proteicas diferentes, resulta claro que, aunque la conformación general de cada proteína es única, suele haber dos patrones de plegamiento regular. Ambos fueron descubiertos hace más de 50 años a partir de estudios del pelo y de la seda. El primer patrón de plegamiento descubierto, denominado **hélice α**, se halló en la proteína *α-queratina*, que es abundante en la piel y sus anexos, como el pelo, las uñas y los cuernos. En el término de un año del descubrimiento de la hélice α, se halló una segunda estructura plegada, denominada **hoja β**, en la proteína fibroína, el principal componente de la seda. (Los biólogos en general utilizan letras griegas para nombrar a sus descubrimientos; el primer ejemplo recibió la designación α, el segundo β y así sucesivamente).

Estos dos patrones de plegamiento son particularmente comunes porque resultan de los enlaces de hidrógeno que se forman entre los grupos N-H y C=O del esqueleto polipeptídico. Como las cadenas laterales de aminoácidos no intervienen en la formación de estos enlaces de hidrógeno, muchas secuencias de aminoácidos diferentes pueden generar hélices α y hojas β. En cada caso, la cadena proteica adopta una forma repetitiva, regular, o *motivo*. La **figura 4-10** presenta estas características estructurales, y los símbolos esquemáticos que se suelen usar para representarlas en modelos de estructuras proteicas.

LÁMINA 4-2 Cuatro formas diferentes de representar el pequeño dominio proteico

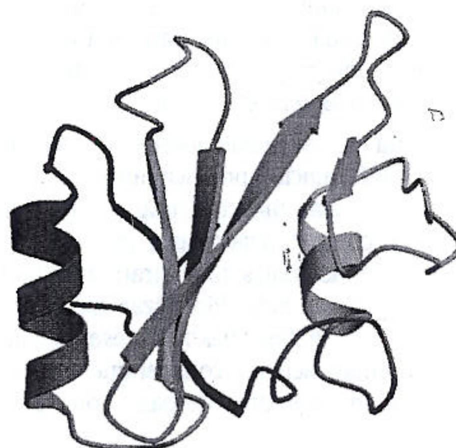




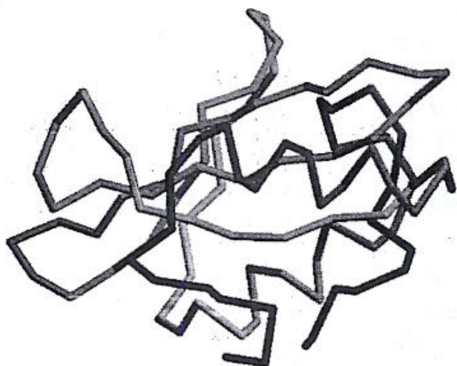


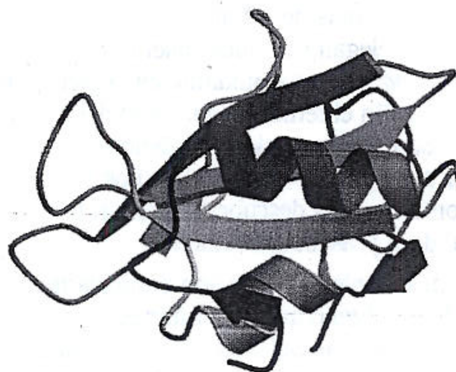






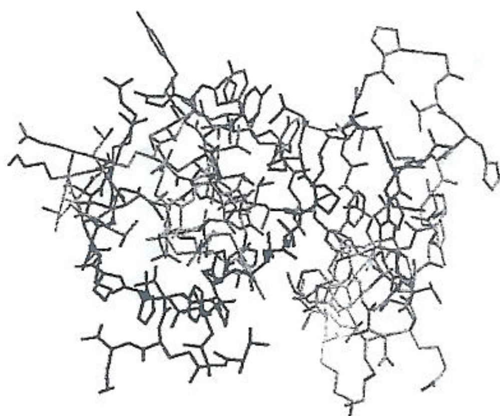


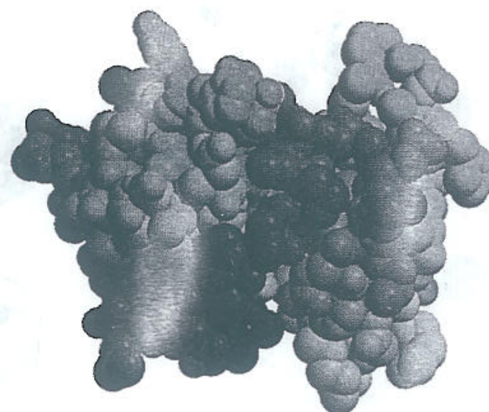


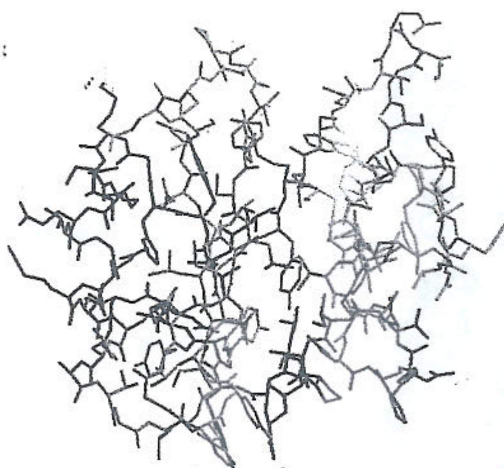


(A) Esqueleto: muestra la organización global de la cadena polipeptídica; una manera simple de comparar estructuras de proteínas relacionadas.

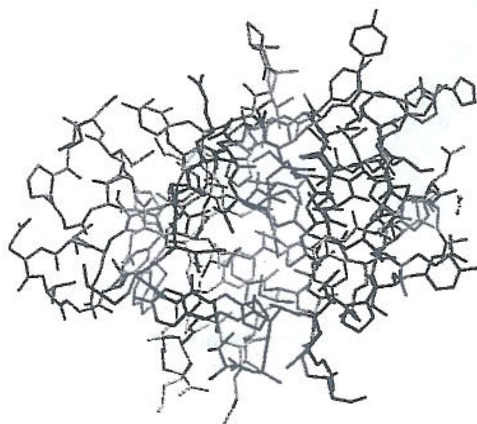
(B) Cinta: manera fácil de visualizar estructuras secundarias, como hélices α y hojas β.



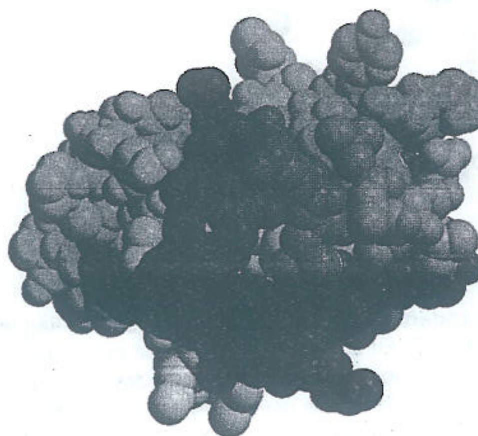








(C) Alambre: destaca las cadenas laterales y su proximidad relativa; útil para predecir qué aminoácidos podrían intervenir en la actividad de una proteína, en particular si ésta es una enzima.



(Courtesy of David Lawson.)

(D) Modelo espacial: suministra un mapa del contorno de la proteína; da la sensación de la forma de la proteína y muestra qué cadenas laterales de aminoácidos están expuestas en su superficie. Revela cómo se podría ver la proteína respecto de una molécula pequeña, como el agua, o respecto de otra proteína.

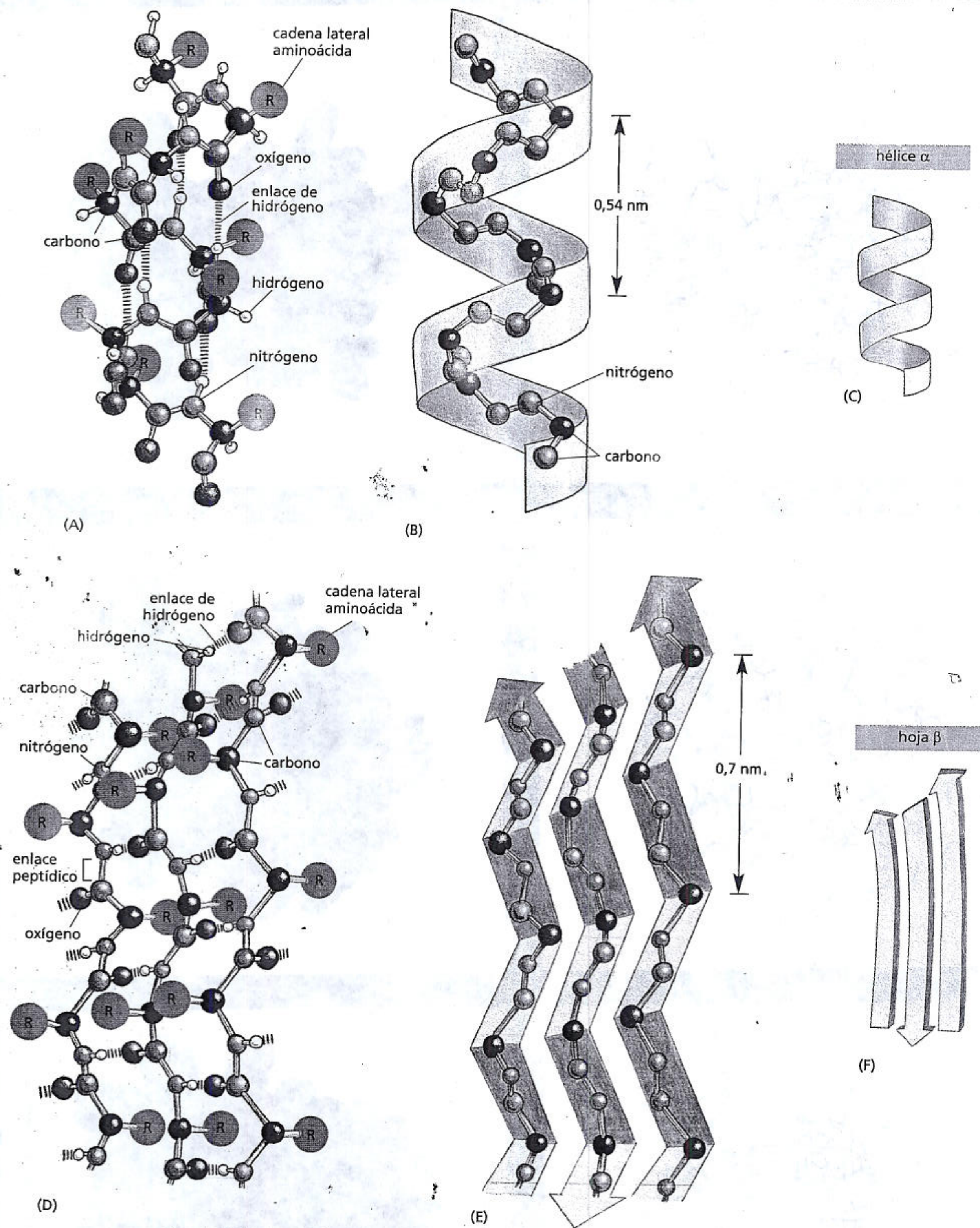


Figura 4-10. Las cadenas polipeptídicas a menudo se pliegan en una o dos formas que se repiten ordenadamente, denominadas hélice α y hoja β. (A-C) En una hélice α, el N–H de cada enlace peptídico está unido mediante enlaces de hidrógeno al C=O de un enlace peptídico vecino, que se localiza a cuatro aminoácidos de distancia en la misma cadena. (D-F) En el caso de la hoja β, las cadenas polipeptídicas individuales (cadenas) de la hoja se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno entre enlaces peptídicos de diferentes cadenas, y las cadenas laterales de los aminoácidos de cada cadena se proyectan alternadamente por encima y por debajo del plano de la hoja. En el ejemplo presentado, las cadenas peptídicas adyacentes transcurren en direcciones opuestas, lo que forma una hoja β antiparalela. (A) y (D) muestran todos los átomos del esqueleto polipeptídico, pero las cadenas laterales de los aminoácidos se indican por R. (B) y (E) muestran sólo los átomos de carbono y nitrógeno del esqueleto, mientras que (C) y (F) ilustran los símbolos esquemáticos utilizados para representar la hélice α y la hoja β en los modelos acintados de las proteínas (véase lámina 4-2B, p.129).

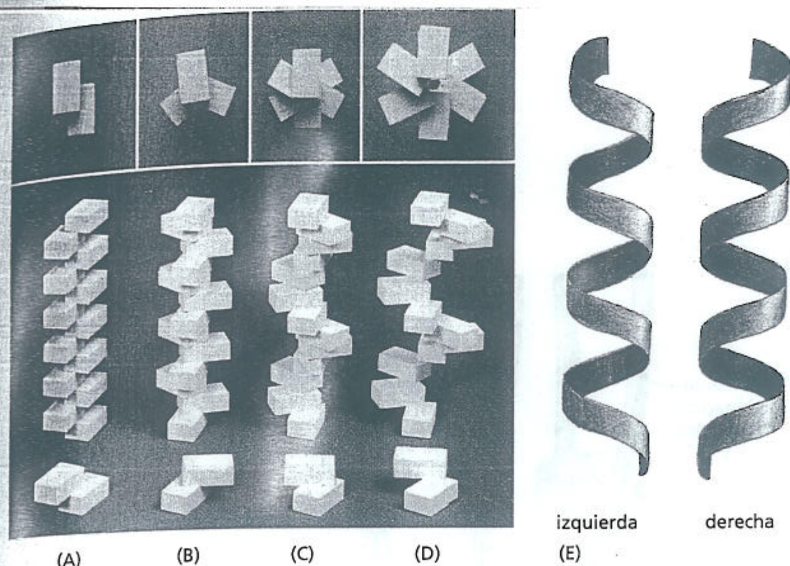


Figura 4-11. La hélice es una estructura biológica regular. Se forma una hélice cuando una serie de subunidades se unen entre sí de un modo regular (A-D). En la parte inferior, se muestra la interacción entre las dos subunidades; detrás de ellas están las hélices resultantes. Estas hélices tienen dos (A), tres (B) o seis (C y D) subunidades por vuelta. En la parte superior, la disposición de las subunidades ha sido fotografiada directamente desde arriba de la hélice. Obsérvese que la hélice de (D) tiene una trayectoria más ancha que la de (C), pero el mismo número de subunidades por giro. (E) Una hélice puede ser dextrógira o levógira. Como referencia, es útil recordar que los tornillos de metal estándares, que se ajustan cuando son girados en el sentido de las agujas del reloj, son dextrógiros. Obsérvase que una hélice mantiene la misma orientación de giro cuando se coloca en posición invertida.

Las hélices se forman fácilmente en las estructuras biológicas

La abundancia de hélices de las proteínas no es, de ningún modo, sorprendente. Una hélice es una estructura regular que se asemeja a una escalera de caracol, como se ilustra en la figura 4-11. Se genera simplemente al colocar muchas subunidades similares una junto a la otra, cada una en la misma relación estrictamente repetida con respecto a la anterior. Como es muy raro que las subunidades se unan en línea recta, esta disposición suele dar por resultado una hélice. Según el giro de la escalera, se dice que una hélice es dextrógira o levógira (Fig. 4-11E). El sentido de giro no se afecta al poner la hélice al revés, pero se invierte si la hélice es reflejada en un espejo.

La hélice α se genera cuando una cadena polipeptídica simple gira sobre sí misma formando un cilindro rígido desde el punto de vista estructural. Cada cuatro aminoácidos, se forma un enlace de hidrógeno, que une el C=O de un enlace peptídico al N–H de otro (véase Fig. 4-10A). Esto da origen a una hélice regular con una vuelta completa cada 3,6 aminoácidos (**Película 4.2**).

Las regiones cortas de una hélice α abundan sobre todo en las proteínas localizadas en las membranas celulares, como proteínas de transporte y receptores. En el capítulo 11, se verá que las porciones de una proteína transmembrana que atraviesan la bicapa lipídica en general forman una hélice α que está compuesta, en gran medida, por aminoácidos con cadenas laterales no polares. El esqueleto polipeptídico, que es hidrófilo, está unido a sí mismo por enlaces de hidrógeno en la hélice α y está protegido del ambiente lipídico hidrófobo de la membrana por sus cadenas laterales no polares que sobresalen (Fig. 4-12).

En ocasiones, un par de hélices α se enrollan una alrededor de la otra formando una estructura particularmente estable, conocida como **disposición en espiral**. Esta estructura se forma cuando las hélices α tienen la mayor parte de sus cadenas laterales no polares (hidrófobas) de un lado, de modo que pueden enrollarse una alrededor de la otra con estas cadenas laterales hacia el interior, lo que minimiza su contacto con el citosol acuoso (Fig. 4-13). Las disposiciones en espiral largas similares a bastones forman el marco estructural de muchas proteínas filamentosas. Por ejemplo, la α-queratina constituye las fibras intracelulares que refuerzan la capa externa de la piel y la miosina es la proteína responsable de la contracción muscular (véase capítulo 17).

Las hojas β forman estructuras rígidas centrales en muchas proteínas

SH2, la pequeña estructura proteica examinada en la lámina 4-2, contiene dos hélices α y una hoja β. Las hojas β se generan cuando se forman enlaces de hidró-

PREGUNTA 4-2

Observe los modelos del dominio proteico de la lámina 4-2, pp. 128-129. ¿Las hélices α son dextrógiras o levógiras? ¿Las tres cadenas que forman la región de mayor tamaño de la hoja β son paralelas o antiparalelas? Comenzando por el N-terminal (el extremo *púrpura*), deslice el dedo a lo largo del esqueleto peptídico. ¿Hay algún nudo? ¿Por qué o por qué no?

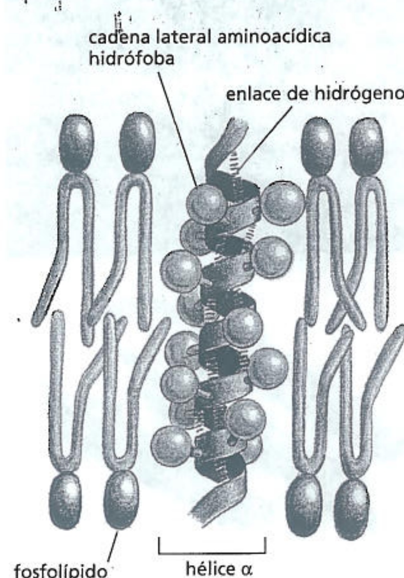
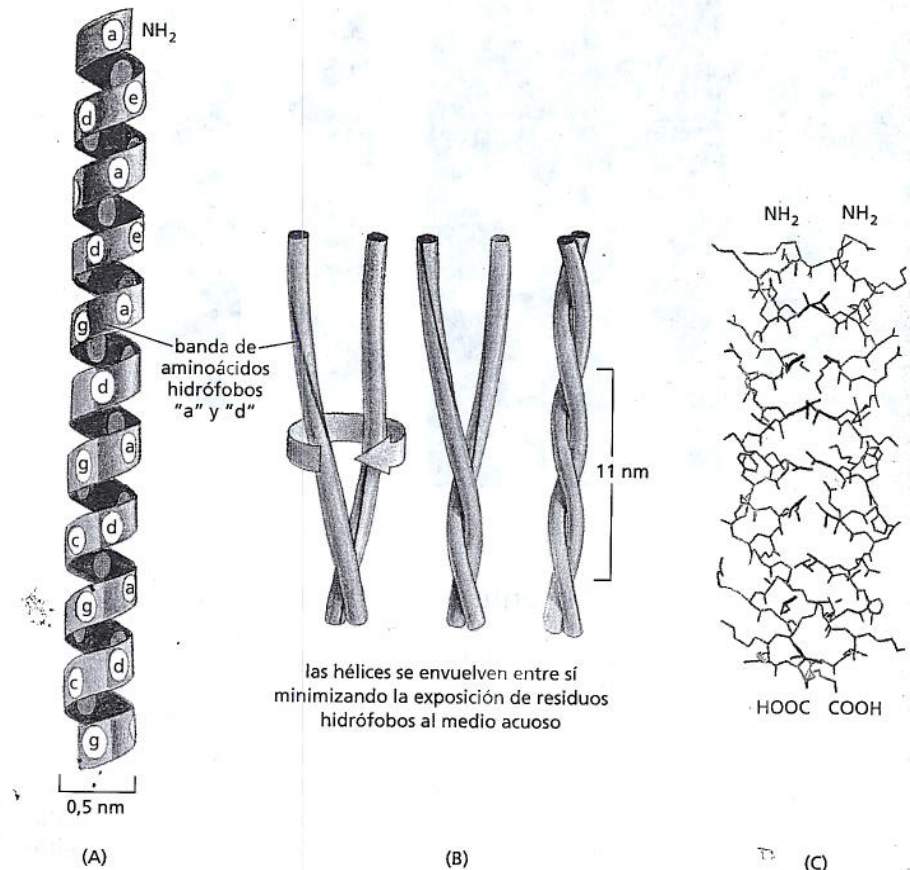


Figura 4-12. Un segmento de hélice α puede atravesar una bicapa lipídica. Las cadenas laterales hidrófobas de los aminoácidos que forman la hélice α se ponen en contacto con las colas hidrocarbonadas hidrófobas de las moléculas de fosfolípidos, mientras que las partes hidrófilas del esqueleto polipeptídico forman enlaces de hidrógeno entre sí en el interior de la hélice. Se requieren cerca de 20 aminoácidos para atravesar una membrana de este modo.

Figura 4-13. Las hélices α entrelazadas pueden formar una disposición en espiral. En (A) se muestra una hélice α aislada, con cadenas laterales de aminoácidos sucesivos marcados en una secuencia de siete componentes "abcdefg." Los aminoácidos "a" y "d" de una secuencia de este tipo se localizan próximos entre sí en la superficie del cilindro y forman una banda (*sombreada en rojo*) que se enrolla lentamente alrededor de la hélice α. Las proteínas que forman disposiciones en espiral suelen tener aminoácidos no polares en las posiciones "a" y "d." En consecuencia, como se muestra en (B), las dos hélices α pueden enroscarse entre sí, con interacción de las cadenas laterales no polares de una hélice α con las cadenas laterales no polares de la otra, mientras que las cadenas laterales de los aminoácidos más hidrófilos quedan expuestas al ambiente acuoso. (C) Estructura atómica de una disposición en espiral formada por dos hélices α, determinada por cristalografía de rayos X. Las cadenas laterales *rojas* son no polares. Las disposiciones en espiral también se pueden formar a partir de tres hélices α (Película 4.3).



PREGUNTA 4-3

Recordando que las cadenas laterales que se proyectan de cada esqueleto polipeptídico de una hoja β están orientadas alternativamente hacia arriba y hacia abajo del plano de la hoja (véase Fig. 4-10D), considere la siguiente secuencia proteica: Leu-Lys-Val-Asp-Ile-Ser-Leu-Arg-Leu-Lys-Ile-Arg-Phe-Glu. ¿Encuentra algo destacable en cuanto a la disposición de los aminoácidos en esta secuencia cuando se incorpora a una hoja β ¿Puede hacer alguna predicción acerca de cómo podría estar dispuesta la hoja β en una proteína? (Consejo: consulte las propiedades de los aminoácidos enumeradas en la Fig. 4-3).

geno entre segmentos adyacentes de las cadenas polipeptídicas (véase Fig. 4-10D). Cuando la estructura consiste en cadenas polipeptídicas vecinas que corren en la misma orientación (p. ej., del N-terminal al C-terminal) se la considera una *hoja β paralela*; cuando se forma a partir de una cadena polipeptídica que se pliega una y otra vez sobre sí misma –y cada sección de la cadena corre en dirección opuesta a la de sus vecinas inmediatas– la estructura es una *hoja β antiparalela* (Fig. 4-14). Ambos tipos de hojas β producen una estructura plegada muy rígida y forman el centro de muchas proteínas. Por ejemplo, el centro de SH_2 es una hoja β antiparalela.

Las hojas β tienen propiedades notables. Les otorgan a las fibras de la seda su extraordinaria resistencia a la tensión. Y pueden evitar que los insectos se congelen por el frío. En una proteína anticongelante, aislada de un escarabajo que vive en climas fríos, una serie de hojas β paralelas forman una superficie perfectamente plana a lo largo de un lado de la molécula proteica (Fig. 4-15). Esta disposición parece ofrecer una plataforma perfecta para la unión de moléculas de agua espaciadas regularmente que están presentes en la estructura cristalina del hielo. Mediante la adhesión a los cristales de hielo que se forman cuando el agua se enfría por debajo de su punto de congelación, las proteínas anticongelantes impiden su crecimiento, lo que evita que se congelen las células de los insectos.

Las proteínas tienen varios niveles de organización

La estructura de una proteína no finaliza con las hélices α y las hojas β; hay otros niveles de organización. Estos niveles no son independientes, sino que están dispuestos uno sobre el siguiente hasta que se define por completo la estructura tri

(A)

(B)

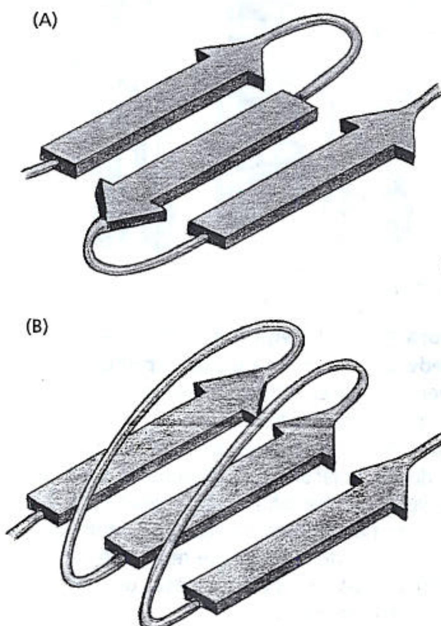


Figura 4-14. Las hojas β son de dos tipos. (A) Hoja β antiparalela (véase además Fig. 4-10D). (B) Hoja β paralela. Ambas estructuras son comunes en las proteínas. Por convención, las flechas apuntan hacia el C-terminal de la cadena polipeptídica (Película 4.4).

hoja β

estructura secundaria

dimensional de toda la proteína. La estructura de una proteína comienza con su secuencia de aminoácidos, que por ello es considerada su *estructura primaria*. El nivel de organización siguiente abarca las hélices α y las láminas β que se forman dentro de ciertos segmentos de una cadena polipeptídica; estos pliegues son los elementos de la **estructura secundaria** de la proteína. La conformación tridimensional completa formada por una cadena polipeptídica entera, que comprende las hélices α, las hojas β, los espirales aleatorios, y cualquier otro bucle y pliegue que se forme entre el N-terminal y el C-terminal, se denomina a veces *estructura terciaria* (véanse, por ejemplo, las estructuras mostradas en la lámina 4-2). Por último, si una molécula proteica particular se forma como un complejo de más de una cadena polipeptídica, la estructura completa se designa *estructura cuaternaria*.

Los estudios de conformación, función y evolución de las proteínas también revelaron la importancia de un nivel de organización distinto del recién descrito. Esta unidad de organización es el **dominio proteico**, definido como cualquier segmento de una cadena polipeptídica que se puede plegar independientemente en una estructura compacta y estable, como se ha visto en el caso del dominio SH_2 (véase Lámina 4-2, pp. 128-129). Por lo general, un dominio consiste en 100-250 aminoácidos (plegados en hélices α, hojas β y otros elementos de la estructura secundaria), y es la unidad modular a partir de la cual se forman muchas proteínas de mayor tamaño (**Fig. 4-16**). Los diferentes dominios de una proteína a menudo se asocian con diferentes funciones. Por ejemplo, la *proteína activadora por catabolitos (CAP)* bacteriana, ilustrada en la figura 4-16, tiene dos dominios: el dominio pequeño se une al DNA, mientras que el dominio grande se une al AMP cíclico, una molécula de señalización intracelular. Cuando el dominio grande se une a AMP cíclico, causa un cambio conformacional de la proteína que permite que el dominio pequeño se una a una secuencia específica de DNA y promueva la expresión de los genes adyacentes. El dominio SH_2 (véase Lámina 4-2) se halla en muchos polipéptidos diferentes, donde actúa como dominio de unión para promover interacciones proteína-proteína, como se verá en el capítulo 16.

Las moléculas proteicas pequeñas, como la proteína transportadora de oxígeno del músculo mioglobina, contiene un solo dominio (véase Fig. 4-9). Las proteínas de mayor tamaño pueden contener hasta varias docenas de dominios, que suelen estar conectados por extensiones relativamente desestructuradas de cadena polipeptídica. La **figura 4-17** presenta los modelos acintados de tres dominios organizados de manera diferente.

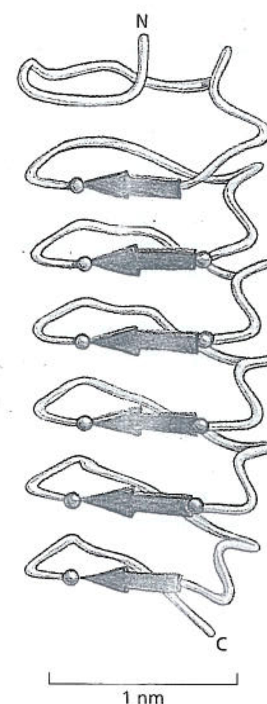


Figura 4-15. Las hojas β proporcionan una superficie de unión ideal para el hielo en una proteína anticongelante. Las seis cadenas β paralelas, mostradas aquí en *rojo*, forman una superficie plana con 10 grupos hidroxilo (*azul*) dispuestos a distancias que corresponden con las moléculas de agua de una red de hielo. Por lo tanto, la proteína se puede unir a los cristales de hielo y evitar su crecimiento. (De Y.C. Liou et al., *Nature* 406:322-324, 2000. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd).

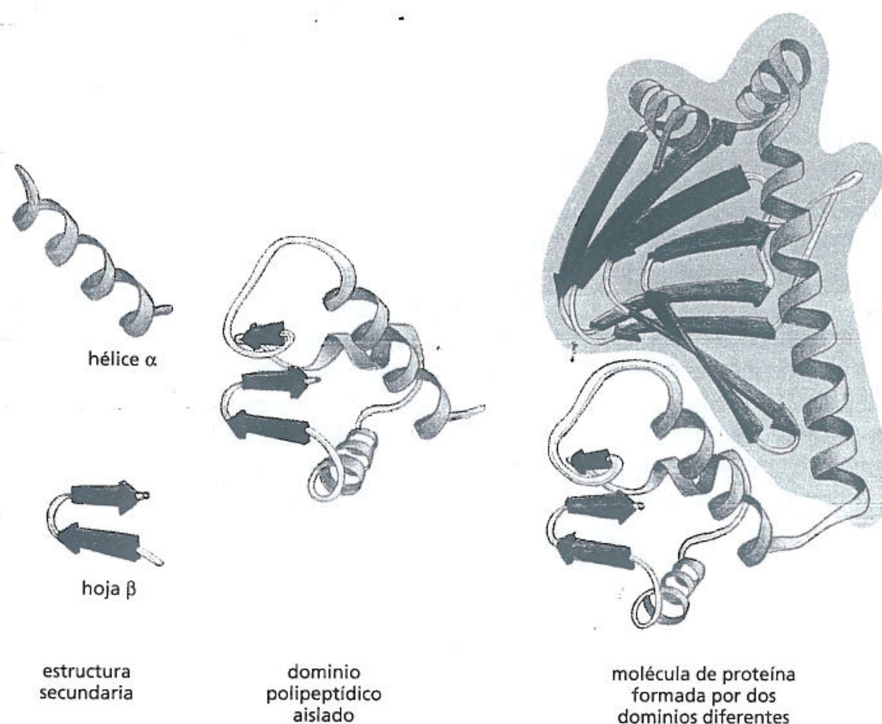


Figura 4-16. Muchas proteínas están compuestas por dominios funcionales separados. Los elementos de la estructura secundaria, como hélices α y hojas β, se reúnen en elementos globulares estables que se pliegan independientemente, denominados dominios. Una molécula de proteína típica está compuesta por uno o más dominios, unidos mediante una región de la cadena polipeptídica que, a menudo, es relativamente desestructurada. El diagrama de cinta de la derecha es de la proteína reguladora génica bacteriana CAP, con un dominio grande (representado en *azul*) y uno pequeño (representado en *amarillo*).

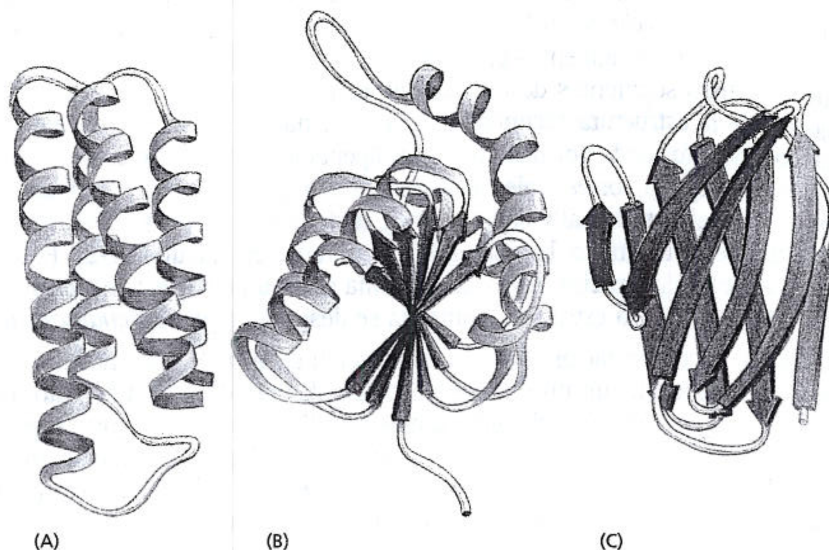


Figura 4-17. Los modelos acintados muestran tres dominios proteicos diferentes. (A) El citocromo b_{562}, una proteína de un solo dominio involucrada en la transferencia de electrones en *E. coli*, está compuesto casi en su totalidad por hélices α. (B) El dominio de unión a NAD de la enzima láctico dehidrogenasa está formado por una mezcla de hélices α y hojas β. (C) El dominio variable de una cadena liviana de inmunoglobulina (anticuerpo) está formado por un emparedado de dos hojas β. En estos ejemplos, las hélices α se muestran en *verde*, mientras que las cadenas organizadas como hojas β son indicadas por *flechas rojas*. Las regiones de los bucles que sobresalen (*amarillo*) con frecuencia forman los sitios de unión para otras moléculas. (Reproducidos a partir de dibujos originales cortesía de Jane Richardson).

Pocas de las numerosas cadenas polipeptídicas posibles serán útiles

En teoría, se podría formar un gran número de cadenas polipeptídicas. Como cada uno de los 20 aminoácidos es químicamente distinto y, en principio, cada uno se puede localizar en cualquier posición de una cadena proteica, una cadena polipeptídica de cuatro aminoácidos de longitud tiene $20 \times 20 \times 20 \times 20 = 160.000$ secuencias distintas posibles. En otras palabras, para un polipéptido de *n* aminoácidos de longitud, son posibles 20^n cadenas diferentes. Para una proteína típica de una longitud de 300 aminoácidos, se podrían formar, en teoría, más de 20^{300} (esto es 10^{390}) cadenas polipeptídicas estructuralmente diferentes.

Sin embargo, sólo una fracción muy pequeña de este número inimaginablemente grande de cadenas polipeptídicas se plegaría en una conformación tridimensional estable, bien definida. La vasta mayoría de las moléculas proteicas individuales tendrían muchas conformaciones diferentes de una estabilidad más o menos igual, y cada conformación presentaría propiedades químicas distintas. Entonces, ¿por qué la mayoría de las proteínas presentes en las células adoptan conformaciones únicas y estables? La respuesta es que una proteína con muchas conformaciones diferentes y propiedades variables no sería útil desde el punto de vista biológico, porque se parecería a una herramienta que, de modo imprevisto, cambia su función. Por lo tanto, estas proteínas debieron haber sido eliminadas por selección natural durante el prolongado proceso de ensayo y error subyacente a la evolución (véase capítulo 9).

PREGUNTA 4-4

Las mutaciones aleatorias sólo muy rara vez dan lugar a cambios de una proteína que mejoran su utilidad para la célula, aunque durante la evolución se seleccionan mutaciones útiles. Como estos cambios son tan infrecuentes, por cada mutación útil hay innumerables mutaciones que no inducen ningún progreso o que desactivan proteínas. ¿Por qué, entonces, las células no contienen millones de proteínas diferentes sin utilidad alguna?

Como resultado de la selección natural, la secuencia de aminoácidos de la mayoría de las proteínas actuales evolucionó de modo que el polipéptido adopte una conformación extremadamente estable, una estructura que le otorgue a la proteína las propiedades químicas exactas que le permitirán realizar una función catalítica o estructural determinada en la célula. Las proteínas están construidas de un modo tan preciso que el cambio de incluso unos pocos átomos de un aminoácido a veces altera su estructura y, de esta forma, elimina su función. De hecho, muchas estructuras proteicas son tan estables y eficaces que se conservaron durante toda la evolución en muchos organismos diversos. Las estructuras tridimensionales de los dominios de unión al DNA de la proteína α2 de la levadura y la proteína Engrailed de *Drosophila*, por ejemplo, son superponibles casi por completo, aunque estos organismos están separados por más de mil millones de años de evolución.

Las proteínas pueden clasificarse en familias

Una vez que una proteína ha evolucionado a una conformación estable con propiedades útiles, su estructura se podría modificar con el tiempo y permitirle cum-

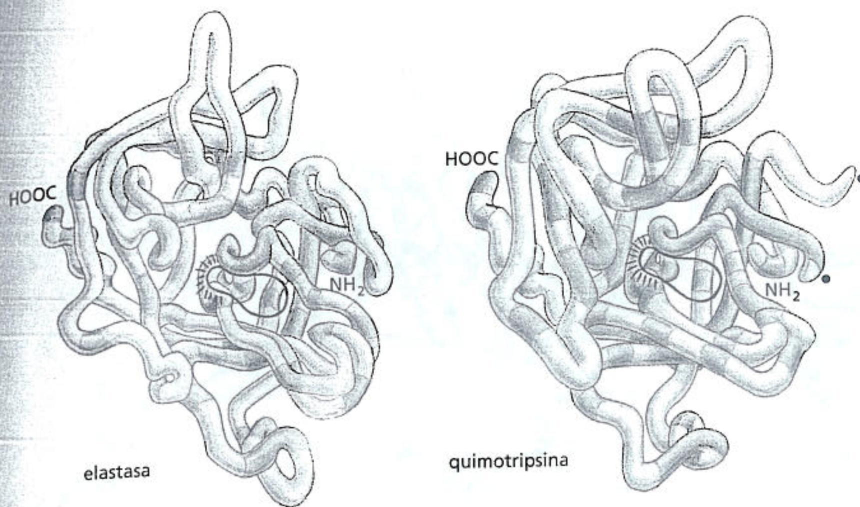


Figura 4-18. Las serinoproteasas pertenecen a una familia de enzimas proteolíticas. Se ilustran las conformaciones del esqueleto de dos serinoproteasas, elastasa y quimotripsina. Aunque sólo los aminoácidos de la cadena polipeptídica sombreados en *verde* son los mismos en ambas proteínas, las dos conformaciones se asemejan mucho casi en todas las partes. El sitio activo de cada enzima está circundado en *rojo*; aquí es donde se lleva a cabo la unión y la fragmentación mediante hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas que actúan como sustratos. Las serinoproteasas toman su nombre del aminoácido serina, cuya cadena lateral es parte del sitio activo de cada enzima y participa directamente en la reacción de clivaje. Los dos puntos en el *lado derecho* de la molécula de quimotripsina marcan los dos extremos creados donde la enzima ha escindido su propio esqueleto.

plir nuevas funciones. Se sabe que esto ha ocurrido con bastante frecuencia durante la evolución, ya que muchas proteínas de la actualidad se pueden agrupar en **familias de proteínas**, en las que cada miembro tiene una secuencia de aminoácidos y una conformación tridimensional muy similar a la de los otros miembros de la familia.

Considérese, por ejemplo, las serinoproteasas, una familia de enzimas que degradan proteínas (proteolíticas) y que incluye las enzimas digestivas quimotripsina, tripsina y elastasa, así como varias proteasas que intervienen en la coagulación sanguínea. Cuando se comparan dos cualquiera de estas enzimas, se observa que partes de sus secuencias de aminoácidos son casi las mismas. La semejanza de sus conformaciones tridimensionales es aún más llamativa: la mayor parte de los enrollamientos y giros de sus cadenas polipeptídicas, que tienen varios cientos de aminoácidos de longitud, son prácticamente idénticos (Fig. 4-18). No obstante, las diversas serinoproteasas tienen actividades enzimáticas distintas, y cada una degrada diferentes proteínas o enlaces peptídicos entre diversos tipos de aminoácidos. Las ligeras diferencias de estructura permiten que cada una de estas proteasas prefiera diferentes sustratos; de este modo, cada una cumple una función distinta en el organismo.

Las moléculas grandes de proteínas con frecuencia contienen más de una cadena polipeptídica

Los mismos enlaces covalentes débiles que permiten que una cadena polipeptídica se pliegue en una conformación específica también posibilitan que las proteínas se unan entre sí y formen estructuras celulares más grandes. Cualquier región de la superficie de una proteína que interactúa con otra molécula por medio de grupos de enlaces no covalentes se denomina *sitio de unión*. Una proteína puede contener sitios de unión para diversas moléculas, grandes y pequeñas. Si un sitio de unión reconoce la superficie de una segunda proteína, la unión estrecha de dos cadenas polipeptídicas plegadas en este sitio creará una molécula proteica de mayor tamaño con una geometría precisamente definida. Cada cadena polipeptídica de una proteína de este tipo se denomina **subunidad**. Cada una de estas subunidades proteicas puede contener más de un dominio, una porción de la cadena polipeptídica que se pliega por separado.

En el caso más simple, dos cadenas polipeptídicas idénticas plegadas forman un complejo simétrico de dos subunidades proteicas (denominada dímero) que se mantiene unido por interacciones entre dos sitios de unión idénticos. La proteína CAP de las células bacterianas es un dímero (Fig. 4-19A) que se forma a partir de dos copias idénticas de la subunidad proteica mostrada en la figura 4-16. En las células, es frecuente hallar muchos otros complejos proteicos simétricos, formados



Figura 4-19. Muchas moléculas proteicas contienen múltiples copias de una sola subunidad proteica. (A) Un dímero simétrico. La proteína CAP es un complejo de dos cadenas polipeptídicas idénticas (véase también Fig. 4-16). (B) Un tetrámero simétrico. La enzima neuraminidasa consiste en un anillo de cuatro cadenas polipeptídicas idénticas. Para (A) y (B), un pequeño esquema debajo de la estructura destaca cómo el uso repetido de la misma interacción de unión forma la estructura. En (A), el uso del mismo sitio de unión en cada monómero (representado por óvalos *marrones* y *verdes*) determina la formación de un dímero simétrico. En (B), un par de sitios de unión no idénticos (representados por círculos *anaranjados* y *azules*) determinan la formación de un tetrámero simétrico.

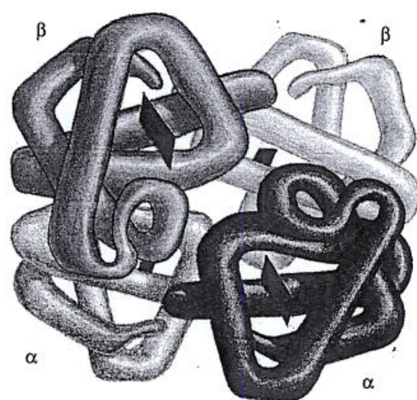


Figura 4-20. Algunas proteínas se forman como un ensamblado simétrico de dos subunidades diferentes. La hemoglobina, una proteína abundante en los glóbulos rojos, presenta dos copias de α-globina y dos copias de β-globina. Cada una de estas cuatro cadenas polipeptídicas contienen una molécula hemo (rectángulo rojo), que es el sitio donde se une el oxígeno (O_2). Por tanto, cada molécula de hemoglobina en la sangre transporta cuatro moléculas de oxígeno.

a partir de múltiples copias de una sola cadena polipeptídica. Por ejemplo, la enzima *neuraminidasa* consiste en un anillo de cuatro subunidades proteicas idénticas (Fig. 4-19B).

Otras proteínas contienen dos o más tipos diferentes de cadenas polipeptídicas. La *hemoglobina*, la proteína que transporta oxígeno en los glóbulos rojos, es un ejemplo particularmente bien estudiado (Fig. 4-20). La proteína contiene dos subunidades de α-globina idénticas y dos subunidades de β-globina idénticas, dispuestas simétricamente. Muchas proteínas contienen múltiples subunidades y pueden ser muy grandes (Película 4.5).

Las proteínas pueden ensamblarse en filamentos, láminas o esferas

Las proteínas pueden formar ensamblajes aún más grandes que los analizados hasta ahora. Lo más simple corresponde a una cadena de moléculas proteicas idénticas que se puede formar si el sitio de unión de una molécula de proteína es complementario de otra región de la superficie de otra molécula proteica del mismo tipo. Como cada molécula está unida a su vecina de una manera idéntica, las moléculas a menudo se disponen en una hélice que se puede extender indefinidamente (Fig. 4-21). Este tipo de disposición puede producir un filamento proteico alargado. Un filamento de actina, por ejemplo, es una estructura helicoidal larga formada por muchas moléculas de la proteína actina (Fig. 4-22). La actina es muy

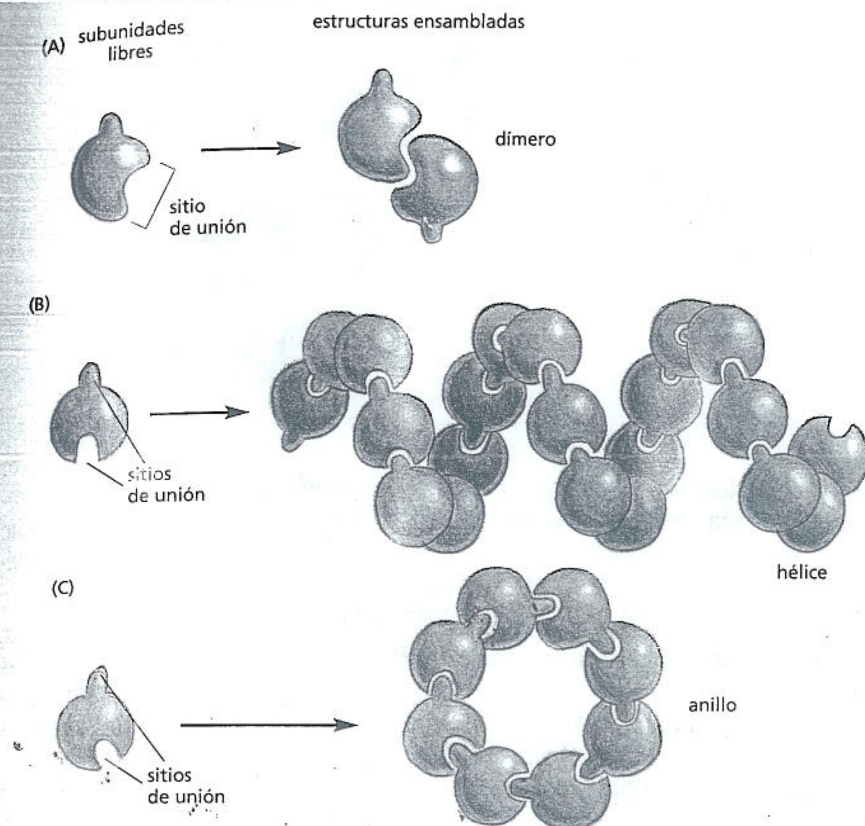


Figura 4-21. Las proteínas se pueden ensamblar en estructuras complejas. (A) Una proteína con un solo sitio de unión puede formar un dímero con otra proteína idéntica. (B) Proteínas idénticas con dos sitios de unión diferentes suelen formar un filamento helicoidal largo. (C) Si los dos sitios de unión están dispuestos apropiadamente uno respecto del otro, las subunidades proteicas forman un anillo cerrado en lugar de una hélice (véase también Fig. 4-19B).

abundante en las células eucariontes, donde representa uno de los principales sistemas de filamentos del citoesqueleto (véase capítulo 17). Otros grupos de proteínas se asocian y forman hojas o tubos extendidos (Fig. 4-23), como en los microtúbulos del citoesqueleto celular, o cápsides esféricas a modo de jaula, como en las cubiertas proteicas de las partículas virales (Fig. 4-24).

Muchas estructuras grandes, por ejemplo virus y ribosomas, se forman a partir de la mezcla de uno o más tipos de proteínas con moléculas de RNA o DNA. Estas estructuras pueden aislarse en forma pura y disociarse en sus macromoléculas componentes. Con frecuencia, es posible reunir los componentes aislados y observar cómo se vuelven a ensamblar de manera espontánea en la estructura original. Esto demuestra que las propias macromoléculas contienen toda la información necesaria para el ensamblaje de la complicada estructura. Los experimentos de este tipo muestran que gran parte de la estructura de una célula tiene capacidad de autoorganización: si producen las proteínas necesarias en las cantidades correctas, se formarán las estructuras apropiadas.

Algunos tipos de proteínas tienen formas fibrosas alargadas

La mayor parte de las proteínas consideradas hasta ahora son proteínas **globulares**, en las que la cadena polipeptídica se pliega en una forma compacta parecida a un balón de superficie irregular. Las enzimas tienden a ser proteínas globulares:

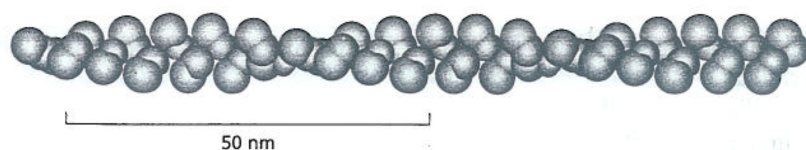


Figura 4-22. Un filamento de actina está compuesto por subunidades proteicas idénticas. La disposición helicoidal de una molécula de actina suele contener miles de moléculas y se extiende por micrómetros en la célula.

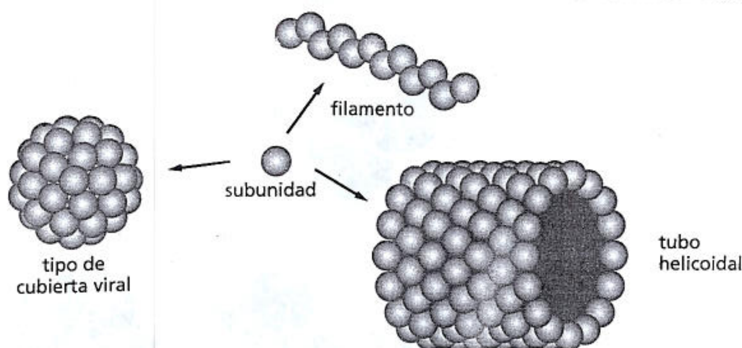


Figura 4-23. Las subunidades proteicas pueden reunirse y formar un filamento, un tubo o una cubierta esférica.

aunque muchas son grandes y complicadas, con múltiples subunidades, la mayor parte tiene una forma general redondeada (véase Fig. 4-9). En cambio, otras proteínas cumplen funciones en la célula que les exigen abarcar una gran distancia. Por lo general, estas proteínas tienen una estructura tridimensional alargada relativamente simple, y se las suele denominar **proteínas fibrosas**.

Una clase grande de proteínas fibrosas intracelulares se parecen a la α-queratina, mencionada antes. Los filamentos de queratina son en extremo estables: las estructuras de vida larga como el pelo, los cuernos y las uñas están compuestas principalmente por esta proteína. Una molécula de α-queratina es un dímero de dos subunidades idénticas, en las que las hélices α largas de cada subunidad forman una disposición en espiral (véase Fig. 4-13). Estas regiones en espiral están recubiertas en sus extremos por dominios globulares que contienen sitios de unión que les permiten ensamblarse en *filamentos intermedios* cordiformes, un componente del citoesqueleto celular que crea un andamiaje estructural en el interior de la célula (véase capítulo 17).

Las proteínas fibrosas son especialmente abundantes en el exterior de la célula, donde forman la *matriz extracelular* de tipo gel, que ayuda a las células a unirse entre sí y constituir tejidos. Las células secretan estas proteínas hacia el medio circundante, donde suelen ensamblarse en hojas o fibrillas largas. En los tejidos animales, el *colágeno* es la más abundante de estas proteínas fibrosas. La molécula de colágeno consiste en tres largas cadenas polipeptídicas, cada una de las cuales contiene el aminoácido no polar glicina situado cada tres posiciones. Esta estructura regular permite que las cadenas se enrollen entre sí generando una larga triple hélice regular (Fig. 4-25A). Muchas moléculas de colágeno se unen entre sí en forma laterolateral y terminoterminal creando largas formaciones superpuestas, lo que genera las fibrillas de colágeno sumamente resistentes que mantienen unidos a los tejidos, como se describe en el capítulo 19.

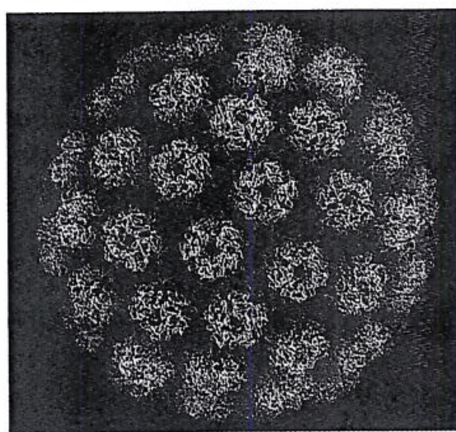


Figura 4-24. Muchas cápsides virales son ensamblajes proteicos más o menos esféricos. Estas cápsides son poliedros formados por muchas copias de un pequeño grupo de subunidades proteicas. El ácido nucleico del virus (DNA o RNA) está empaquetado en el interior. La estructura del virus de los monos SV40, aquí mostrada, se determinó mediante cristalografía de rayos X y se conoce su detalle atómico. (Cortesía de Robert Grant, Stephan Crainic y James M. Hogle).

Hay otra proteína en la matriz extracelular, la *elastina*, que se diferencia por completo del colágeno. Las moléculas de elastina se forman a partir de cadenas polipeptídicas relativamente laxas y no estructuradas unidas mediante enlaces covalentes, que forman una malla elástica parecida al caucho. Las fibras elásticas resultantes permiten que la piel y otros tejidos, como arterias y pulmones, se distiendan y se contraigan sin sufrir laceraciones. Como se ilustra en la figura 4-25B, la elasticidad se debe a la capacidad de cada molécula proteica de desenrollarse de manera reversible cuando son estiradas.

Las proteínas extracelulares con frecuencia se estabilizan mediante enlaces cruzados covalentes

Muchas moléculas proteicas están unidas al exterior de la membrana plasmática de la célula o se secretan como parte de la matriz extracelular. Todas estas proteínas se hallan expuestas directamente a las condiciones extracelulares. Para ayudar a mantener sus estructuras, las cadenas polipeptídicas a menudo se estabilizan mediante enlaces cruzados covalentes. Éstos pueden vincular a dos aminoá-

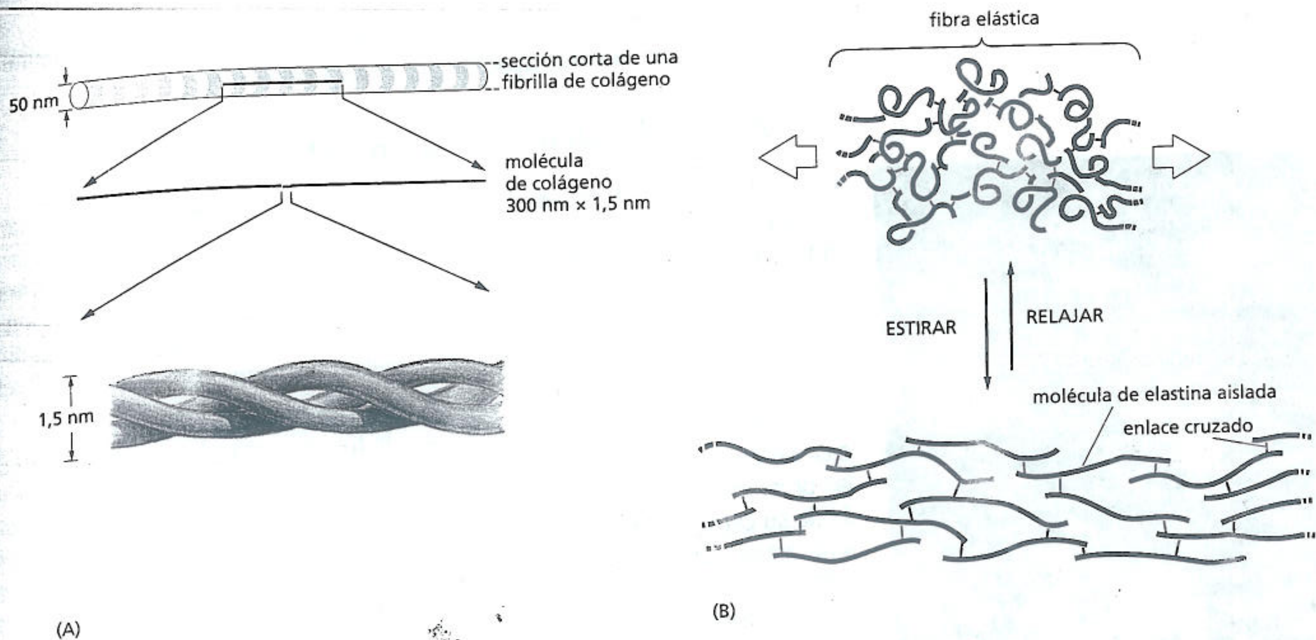


Figura 4-25. El colágeno y la elastina son proteínas fibrosas abundantes. (A) El colágeno es una hélice triple formada por tres cadenas proteicas extendidas que se enrollan una alrededor de la otra. Muchas moléculas bastoniformes de colágeno se entrelazan entre sí en el espacio extracelular y forman fibrillas de colágeno (arriba) que tienen la resistencia a la tensión semejante del acero. La estriación de la fibrilla de colágeno es causada por la disposición repetitiva regular de las moléculas dentro de la fibrilla. (B) Las cadenas polipeptídicas de elastina se entrelazan formando fibras elásticas similares al caucho. Cada molécula de elastina se desenrolla en una conformación más extendida cuando la fibra es estirada y se vuelve a enrollar espontáneamente en cuanto la fuerza de estiramiento se relaja.

cidos de la misma proteína o conectar diferentes cadenas polipeptídicas de una proteína de múltiples subunidades. Los enlaces cruzados covalentes más comunes de las proteínas son los enlaces azufre-azufre. Estos **enlaces disulfuro** (también denominados enlaces S–S) se forman cuando las proteínas son exportadas de la célula. Su formación es catalizada en el retículo endoplasmático por una enzima especial que une dos grupos –SH de las cadenas laterales de cisteína que son adyacentes en la proteína plegada (Fig. 4-26). Los enlaces disulfuro no cambian la conformación de una proteína, sino que actúan como una especie de "grapa atómica" reforzando su conformación más favorecida. Por ejemplo, la lisozima –una enzima presente en las lágrimas, la saliva y otras secreciones, que puede disolver la pared de las células bacterianas– conserva su actividad antibacteriana por largo tiempo ya que es estabilizada por estos enlaces cruzados covalentes.

Por lo general, no se forman enlaces disulfuro en el citosol celular, donde una alta concentración de agentes reductores los convierte de nuevo en cisteínas con gru-

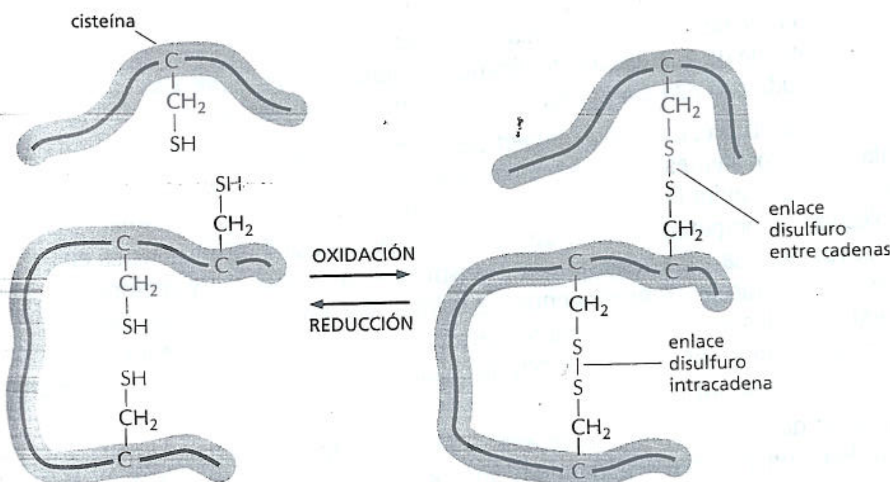


Figura 4-26. Los enlaces disulfuro ayudan a estabilizar una conformación proteica favorable. El esquema ilustra cómo se forman enlaces disulfuro covalentes entre cadenas laterales de cisteína adyacentes. Como se indicó, estos enlaces pueden unir dos partes de la misma cadena polipeptídica o dos cadenas polipeptídicas diferentes. Puesto que la energía requerida para romper un enlace covalente es mucho mayor que la necesaria para romper incluso un grupo entero de enlaces no covalentes (véase cuadro 2-1, p. 47), un enlace disulfuro puede tener un efecto estabilizador importante en una proteína (Película 4.6).

pos –SH. Al parecer, las proteínas no requieren este tipo de refuerzo estructural en el ambiente relativamente apacible del interior celular.

CÓMO FUNCIONAN LAS PROTEÍNAS

PREGUNTA 4-5
El pelo está compuesto principalmente por fibras de la proteína queratina. Las fibras de queratina están unidas en forma covalente entre sí (uniones cruzadas) por numerosos enlaces disulfuro. Si un cabello rizado es tratado con agentes reductores suaves que rompen unos pocos enlaces cruzados, se estira, y luego oxidado otra vez, permanece alisado. Dibuje un esquema que represente las diferentes etapas de estos procesos mecánicos y químicos en el nivel molecular, y concéntrese en los enlaces disulfuro. ¿Qué sucedería si el cabello fuera tratado con agentes reductores fuertes que rompen todos los enlaces disulfuro?

Las proteínas no son masas de material inerte. Sus diferentes secuencias de aminoácidos dan origen a una enorme variedad de formas, cada una con una topografía superficial única de grupos químicos. Y la conformación de cada proteína le otorga una función singular basada en sus propiedades químicas. Esta unión de estructura, propiedades químicas y actividad les da a las proteínas la extraordinaria capacidad para coordinar los procesos dinámicos que se producen en las células vivas.

Por lo tanto, en las proteínas, la forma y la función están inextricablemente ligadas. Pero subsiste el interrogante fundamental: ¿cómo llevan a cabo su función las proteínas? En esta parte del capítulo, se verá que la actividad de éstas depende de su capacidad para unirse específicamente a otras moléculas, lo que les permite actuar como catalizadores, soportes estructurales, receptores de señales y motores minúsculos. Los ejemplos que aquí se analizarán de ningún modo agotan el enorme repertorio funcional de las proteínas. De todos modos, las funciones especializadas de muchas de las proteínas que encontrará en otras partes de este libro se basan en los mismos principios.

Todas las proteínas se unen a otras moléculas

Las propiedades biológicas de una molécula proteica dependen de su interacción física con otras moléculas. Los anticuerpos se unen a los virus o a las bacterias como parte de las defensas del organismo, la enzima hexocinasa se une a glucosa y ATP para catalizar una reacción entre éstos, las moléculas de actina se unen entre sí para ensamblarse en largos filamentos, etc. De hecho, todas las proteínas se adhieren, o se unen, a otras moléculas. En algunos casos, esta unión es muy estrecha; en otros, es débil y de corta duración. Como se vio en el capítulo 3, la K_M de una enzima refleja su afinidad por su sustrato: cuanto más baja es la K_M, más estrecha es la unión. Independientemente de su fuerza, la unión muestra siempre gran *especificidad*: cada molécula proteica se puede unir sólo a una o a unas pocas moléculas de los muchos miles de moléculas diferentes con las que se encuentra. Cualquier sustancia que es fijada por una proteína, tanto si ésta es un ión, una molécula pequeña o una macromolécula, se denomina **ligando** de esa proteína (del latín *ligare*, "unir").

La capacidad de una proteína para unirse selectivamente y con alta afinidad a un ligando se debe a la formación de un grupo de enlaces débiles, no covalentes –enlaces de hidrógeno, atracciones electrostáticas y atracciones de van der Waals– sumada a interacciones hidrófobas favorables (véase Lámina 2-7, pp. 76-77). Cada enlace es débil, de modo que una interacción eficaz requiere que se formen simultáneamente muchos enlaces débiles. Esto sólo es posible si el contorno de la superficie de la molécula del ligando se ajusta con gran precisión a la proteína y coincide con ella como una mano con un guante (Fig. 4-27).

Cuando las moléculas tienen superficies poco compatibles, se forman escasos enlaces no covalentes, y las dos moléculas se disocian tan rápido como se unen. Esto es lo que evita la formación de asociaciones incorrectas y no deseadas entre moléculas incompatibles. En el otro extremo, cuando se forman muchos enlaces no covalentes, la asociación puede persistir por un período muy prolongado. Se observan interacciones fuertes entre las células siempre que una función biológica exige que las moléculas se mantengan estrechamente asociadas por largo tiempo: p. ej., cuando un grupo de macromoléculas se unen formando una estructura subcelular, como un ribosoma.

La región de una proteína que se asocia con un ligando, conocida como su **sitio de unión**, consiste por lo general en una cavidad en la superficie de la proteína

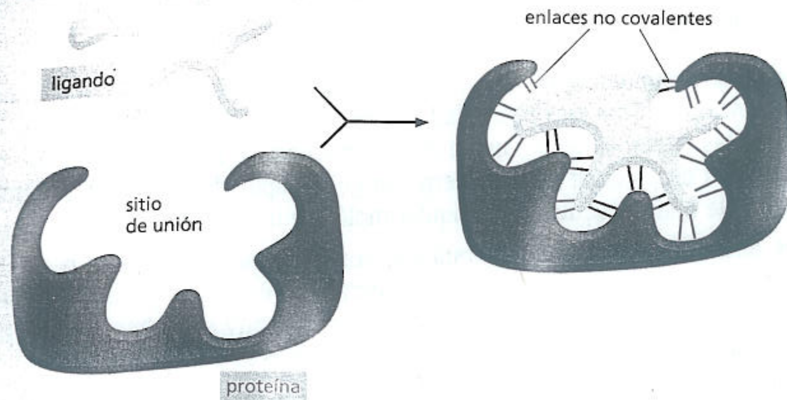


Figura 4-27. La unión de una proteína a otra molécula es muy selectiva. Se necesitan muchas uniones débiles para permitir que una proteína se una estrechamente a una segunda molécula (el ligando). Por lo tanto, el ligando se debe adaptar con precisión al sitio de unión de la proteína, como una mano en un guante, de modo que se pueda formar un gran número de enlaces no covalentes entre la proteína y el ligando.

formada por una disposición particular de los aminoácidos. Éstos pueden pertenecer a regiones muy separadas de la cadena polipeptídica que se aproximan cuando se pliega la proteína (Fig. 4-28). Otras regiones de la superficie suelen proporcionar sitios de unión para diferentes ligandos, lo que permite regular la actividad de las proteínas, como se verá más adelante. Sin embargo, pueden ser necesarias otras partes de la proteína para atraerla o unirla a una localización particular de la célula: p. ej., la hélice α hidrófoba de una proteína transmembrana le permite insertarse dentro de la bicapa lipídica de la membrana celular (véase capítulo 11). Aunque los átomos situados en el interior de una proteína no tienen contacto directo con el ligando, proporcionan un andamiaje esencial que le da a la superficie su contorno y sus propiedades químicas. Aun pequeños cambios de los aminoácidos del interior de una molécula proteica pueden modificar su forma tridimensional y anular la capacidad funcional de la proteína.

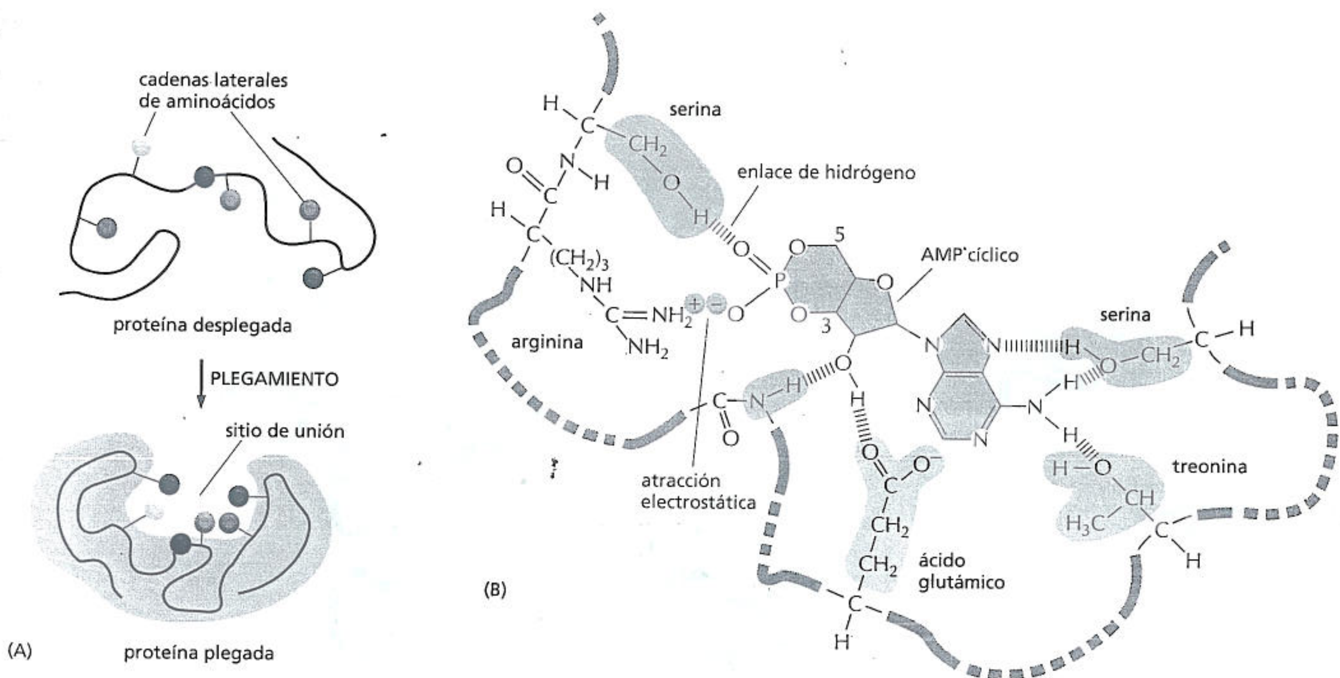


Figura 4-28. Los sitios de unión le permiten a una proteína interactuar con ligandos específicos. (A) El plegamiento de una cadena polipeptídica suele crear una hendidura o cavidad sobre la superficie de la proteína. Esta hendidura contiene un grupo de cadenas laterales de aminoácidos dispuestos de tal manera que pueden formar una serie de enlaces no covalentes sólo con ciertos ligandos. (B) Primer plano de un sitio de unión real que muestra los enlaces de hidrógeno y las interacciones iónicas entre una proteína y su ligando (en este ejemplo, el ligando es AMP cíclico, ilustrado en *rosa*).

Los sitios de unión de los anticuerpos son especialmente versátiles

Todas las proteínas se deben unir a ligandos particulares para realizar sus diversas funciones. Pero esta capacidad de unión parece haberse desarrollado al máximo en las proteínas de la familia de los anticuerpos: nuestro organismo tienen la capacidad de producir un anticuerpo singular capaz de reconocer y unirse estrechamente a la estructura de cualquier molécula imaginable.

Los **anticuerpos**, o inmunoglobulinas, son proteínas producidas por el sistema inmunitario en respuesta a moléculas extrañas, como las de la superficie de un microorganismo invasor. Cada anticuerpo se une muy estrechamente a una molécula diana particular y la desactiva en forma directa o la marca para su destrucción. Un anticuerpo reconoce a su diana (denominada **antígeno**) con una extraordinaria especificidad, y como hay potencialmente miles de millones de antígenos diferentes que una persona podría encontrar, tenemos que ser capaces de producir miles de millones de anticuerpos distintos.

Los anticuerpos son moléculas en forma de Y con dos sitios de unión idénticos que son, ambos, complementarios de una pequeña parte de la superficie de la molécula del antígeno. Un examen detallado de los sitios de unión al antígeno de los anticuerpos revela que están formados a partir de varios bucles de cadena polipeptídica que sobresalen de los extremos de un par de dominios proteicos estrechamente yuxtapuestos (Fig. 4-29). La secuencia de aminoácidos en estos bucles se puede modificar por mutación sin alterar la estructura básica del anticuerpo. Es posible generar una enorme diversidad de sitios de unión al antígeno sólo mediante la modificación de la longitud y la secuencia de los aminoácidos de los bucles, que es como se forma la amplia variedad de anticuerpos diferentes (Película 4.7).

Gracias a su singular combinación de especificidad y diversidad, los anticuerpos no sólo son indispensables para combatir infecciones, sino que también son valiosos en el laboratorio, donde se los puede utilizar para purificar y estudiar otras moléculas (lámina 4-3, pp. 144-145).

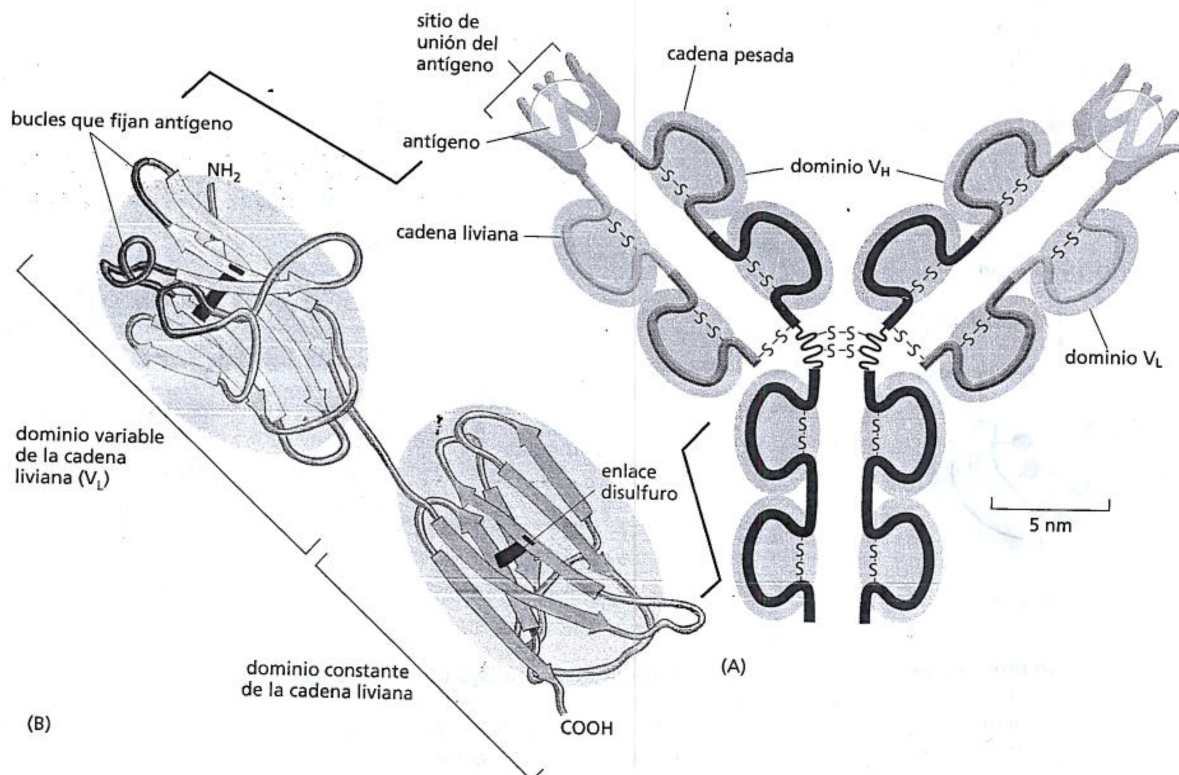


Figura 4-29. Un anticuerpo tiene la forma de una Y y presenta dos sitios de unión idénticos para su antígeno, uno en cada brazo de la Y. (A) Esquema de una molécula de anticuerpo típica. La proteína está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas (dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas livianas más pequeñas idénticas) unidas por enlaces disulfuro. Cada cadena está constituida por varios dominios diferentes, aquí sombreados de *azul* o *gris*. El sitio de unión al antígeno se forma donde se acercan un dominio variable de la cadena pesada (V_H) y un dominio variable de la cadena liviana (V_L). Estos son los dominios que más difieren en secuencia y estructura en distintos anticuerpos. (B) El esquema acintado de una única cadena liviana muestra en *rojo* las partes del dominio V_L más estrechamente involucradas en la unión del antígeno; esta zona contribuye con la mitad de los bucles en forma de dedo que se pliegan alrededor de cada una de las moléculas del antígeno en (A).

Las enzimas son catalizadores potentes y muy específicos

Para muchas proteínas, la unión a otra molécula es su única función. Una molécula de anticuerpo sólo necesita unirse a su molécula diana en la superficie de una bacteria o de un virus, y su trabajo está cumplido; una molécula de actina sólo debe asociarse con otras moléculas de actina para formar un filamento. En cambio, hay otras proteínas para las que la unión al ligando es simplemente un primer paso necesario en su función. Éste es el caso de la clase de proteínas denominadas enzimas. Estas extraordinarias moléculas determinan todas las transformaciones químicas que se producen en las células. Las enzimas se unen a uno o más ligandos, denominados sustratos, y los convierten en productos modificados químicamente, y hace esto una y otra vez con asombrosa rapidez. Como se vio en el capítulo 3, aceleran las reacciones, a menudo por un factor de un millón o más, sin modificarse en sí mismas: es decir, actúan como catalizadores que permiten a las células formar o romper enlaces covalentes a voluntad. Esta catálisis de series organizadas de reacciones químicas enzimáticas crea y mantiene a la célula, y hace posible la vida.

Las enzimas se pueden agrupar en clases funcionales según las reacciones químicas que catalizan (cuadro 4-1). Cada tipo de enzima es muy específico, ya que sólo cataliza un tipo de reacción. Así, la *hexocinasa* agrega un grupo fosfato a la D-glucosa, pero ignora a su isómero óptico L-glucosa; la enzima de coagulación de la sangre *trombina* corta un tipo de proteína sanguínea entre una arginina particular y su glicina adyacente sin hacerlo en ningún otro lugar. Como se analizó en detalle en el capítulo 3, las enzimas suelen funcionar en tándem, de manera que el producto de una enzima se convierte en el sustrato de la siguiente. El resultado es una red elaborada de *vías metabólicas* que proporciona energía a la célula y genera muchas de las grandes y pequeñas moléculas que ella necesita.

PREGUNTA 4-6

Explique cómo puede distinguir una enzima (como la hexocinasa, mencionada en el texto) a sus sustratos (aquí, D-glucosa) de sus isómeros ópticos (aquí, L-glucosa). (Consejo: recordando que un átomo de carbono forma cuatro enlaces simples que están dispuestos en forma de tetraedro y que los isómeros ópticos son imágenes especulares uno del otro alrededor del enlace, dibuje el sustrato como un simple tetraedro con cuatro ángulos diferentes y, después, dibuje su imagen especular. Utilizando estos dibujos, indique por qué sólo un compuesto se podría unir a un sitio activo esquemático de una enzima).

La lisozima ilustra cómo funciona una enzima

Para explicar cómo catalizan las enzimas las reacciones químicas, se utilizará el ejemplo de la lisozima, una enzima que actúa como un antibiótico natural en la clara del huevo, la saliva, las lágrimas y en otras secreciones. La lisozima secciona las cadenas de polisacáridos que forman las paredes celulares de las bacterias. Como la célula bacteriana está bajo presión por las fuerzas osmóticas, cortar incluso un pequeño número de cadenas de polisacáridos hace que la pared celular se rompa, y que la bacteria estalle. La lisozima es una proteína relativamente pequeña y estable que se puede aislar con facilidad en grandes cantidades. Por estas

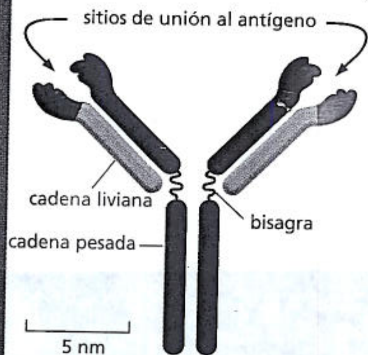
CUADRO 4-1 ALGUNOS TIPOS FUNCIONALES COMUNES DE ENZIMAS

TIPO DE ENZIMA	FUNCIÓN BIOQUÍMICA
Hidrolasa	Término general para las enzimas que catalizan una reacción de fragmentación hidrolítica.
Nucleasa	Degrada los ácidos nucleicos por hidrólisis de los enlaces entre nucleótidos.
Proteasa	Degrada las proteínas por hidrólisis de los enlaces peptídicos entre aminoácidos.
Sintetasa	Nombre general utilizado para las enzimas que sintetizan moléculas en reacciones anabólicas por condensación de dos moléculas.
Isomerasa	Cataliza el reordenamiento de enlaces dentro de una sola molécula.
Polimerasa	Cataliza reacciones de polimerización, como la síntesis de DNA y RNA.
Cinasa	Cataliza el agregado de grupos fosfato a las moléculas. Las proteincinasas son un grupo importante de cinasas que unen grupos fosfatos a las proteínas.
Fosfatasa	Cataliza la eliminación hidrolítica de un grupo fosfato de una molécula
Oxidorreductasa	Nombre general para las enzimas que catalizan reacciones en las que una molécula es oxidada y la otra es reducida. Las enzimas de este tipo generalmente se llaman oxidasas, reductasas o deshidrogenasas.
ATPasa	Hidroliza el ATP. Muchas proteínas con un amplio rango de funciones tienen actividad ATPasa que les permite aprovechar energía como parte de su función, por ejemplo, las proteínas motoras como la miosina y las proteínas de transporte de membrana como la bomba sodio-potasio.

Los nombres de las enzimas suelen terminar en "asa", con excepción de algunas enzimas, como pepsina, tripsina, trombina, lisozima, etc., que fueron descubiertas y denominadas antes de que la convención se aceptara en forma generalizada a fines del siglo XIX. El nombre común de una enzima suele indicar el sustrato y la naturaleza de la reacción catalizada. Por ejemplo, citrato sintetasa cataliza la síntesis de citrato mediante una reacción entre la acetil-CoA y el ácido oxalacético.

LÁMINA 4-3 Producción y uso de anticuerpos

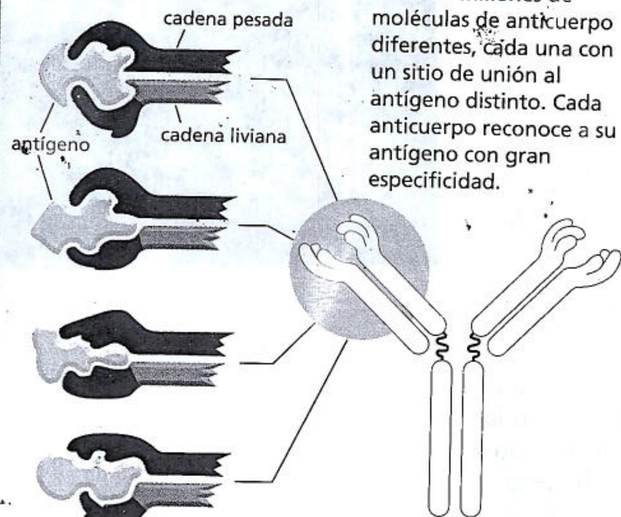
LA MOLÉCULA DE ANTICUERPO



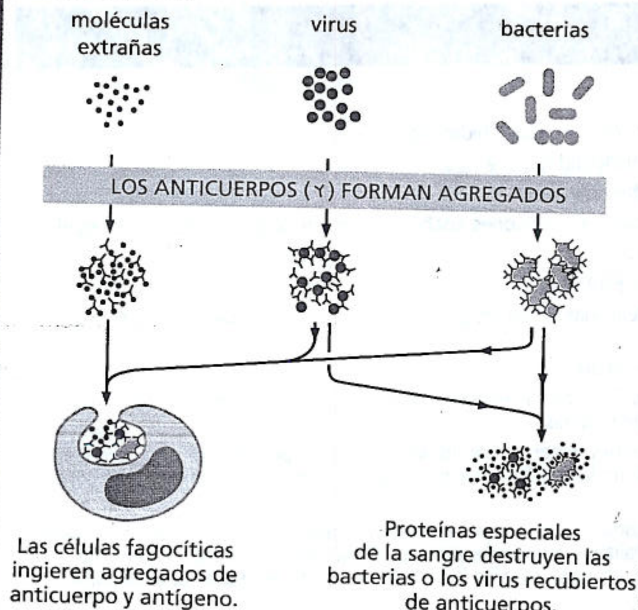
Los anticuerpos son proteínas que se unen muy estrechamente a sus dianas (antígenos). Los vertebrados los producen como una defensa contra la infección. Cada molécula de anticuerpos está formada por dos cadenas livianas idénticas y dos cadenas pesadas idénticas, de manera que los dos sitios de unión al antígeno son iguales.

ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS

Cada animal puede fabricar miles de millones de moléculas de anticuerpo diferentes, cada una con un sitio de unión al antígeno distinto. Cada anticuerpo reconoce a su antígeno con gran especificidad.



LOS ANTICUERPOS NOS DEFIENDEN CONTRA LA INFECCIÓN

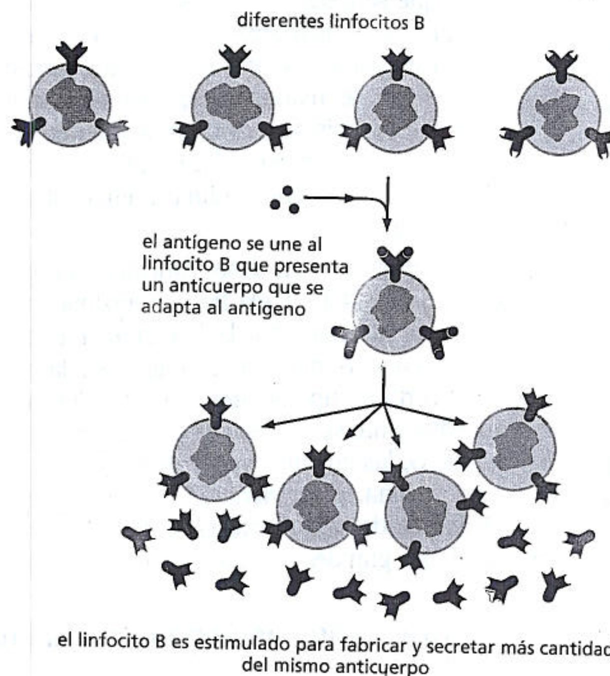


Las células fagocíticas ingieren agregados de anticuerpo y antígeno.

Proteínas especiales de la sangre destruyen las bacterias o los virus recubiertos de anticuerpos.

LOS LINFOCITOS B PRODUCEN ANTICUERPOS

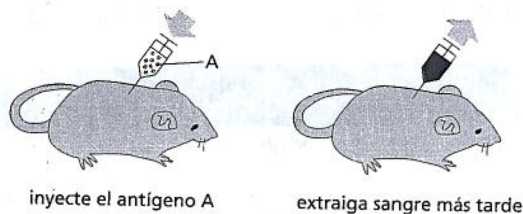
Los anticuerpos son fabricados por una clase de leucocitos, denominados linfocitos B o células B. Cada linfocito B en reposo presenta una molécula de anticuerpo diferente unida a su membrana, en la superficie, que sirve como receptor para reconocer un antígeno específico. Cuando el antígeno se une a su receptor, el linfocito B es estimulado para dividirse y secretar grandes cantidades del mismo anticuerpo en forma soluble.



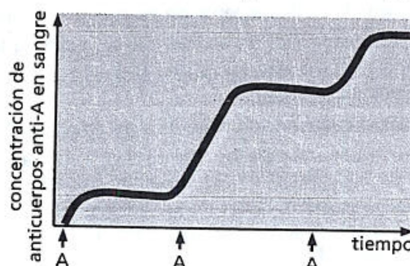
el linfocito B es estimulado para fabricar y secretar más cantidad del mismo anticuerpo

OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS EN ANIMALES

En el laboratorio, se pueden producir anticuerpos inyectando a un animal (por lo general, un ratón, un conejo, una oveja o una cabra) con el antígeno A.



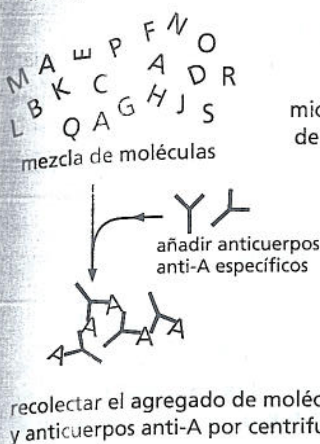
Las inyecciones repetidas del mismo antígeno con intervalo de varias semanas estimulan a linfocitos B específicos a secretar grandes cantidades de anticuerpos anti-A al torrente sanguíneo.



Como el antígeno A estimula muchos linfocitos B diferentes, la sangre contendrá una variedad de anticuerpos anti-A, cada uno se une a A de una manera ligeramente distinta.

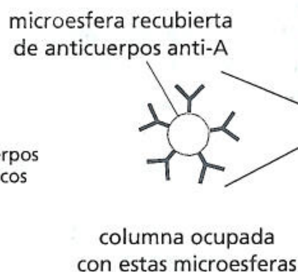
USO DE ANTICUERPOS PARA PURIFICAR MOLÉCULAS

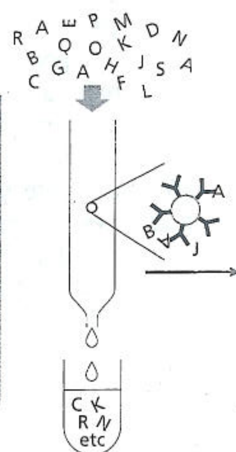
INMUNOPRECIPITACIÓN

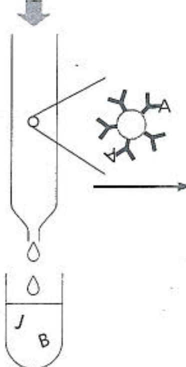


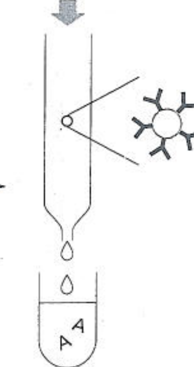
recolectar el agregado de moléculas A y anticuerpos anti-A por centrifugación

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE INMUNOAFINIDAD







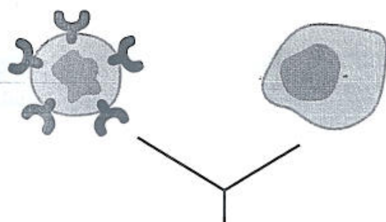


ANTICUERPOS MONOCLONALES

Se pueden obtener grandes cantidades de un solo tipo de molécula de anticuerpo fusionando un linfocito B (tomado de un animal inyectado con el antígeno A) con una célula tumoral. La célula híbrida resultante se divide indefinidamente y secreta anticuerpos anti-A de un solo tipo (monoclonal).

El linfocito B del animal inyectado con antígeno A fabrica anticuerpos anti-A, pero no se divide por siempre.

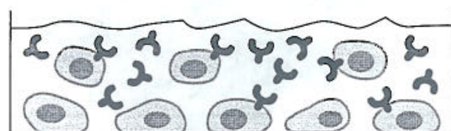
La célula tumoral del cultivo celular se divide indefinidamente, pero no fabrica anticuerpos.



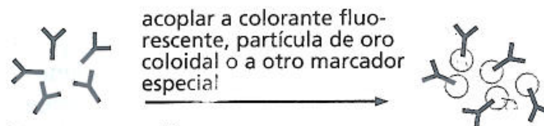
FUSIONE EL LINFOCITO B SECRETOR DE ANTICUERPOS CON LA CÉLULA TUMORAL



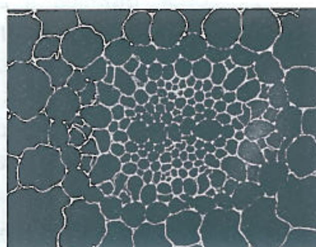
La célula híbrida fabrica anticuerpos anti-A y se divide indefinidamente.



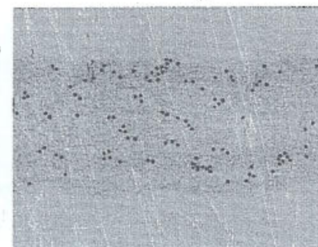
USO DE ANTICUERPOS COMO MARCADORES MOLECULARES



DETECCIÓN MICROSCÓPICA



El anticuerpo fluorescente se une al antígeno A en el tejido y es detectado por fluorescencia con un microscopio óptico. Aquí, el antígeno es pectina de las paredes celulares de un corte de tejido vegetal.



El anticuerpo marcado con oro se une al antígeno A en el tejido y es detectado con un microscopio electrónico. Aquí, el antígeno es pectina de la pared celular de una sola célula vegetal.

DETECCIÓN BIOQUÍMICA



El antígeno A es separado de otras moléculas por electroforesis.



La incubación con los anticuerpos marcados que se unen al antígeno A permite determinar la posición del antígeno.

Nota: en todos los casos, la sensibilidad puede aumentar mucho si se utilizan múltiples capas de anticuerpos. Este método del "emparedado" permite detectar cantidades más pequeñas de moléculas de antígeno.

El segundo anticuerpo marcado (*azul*) se une al primer anticuerpo (*negro*).



razones, se la ha estudiado mucho, y fue la primera enzima cuya estructura se dilucidó en detalle atómico mediante cristalografía de rayos X.

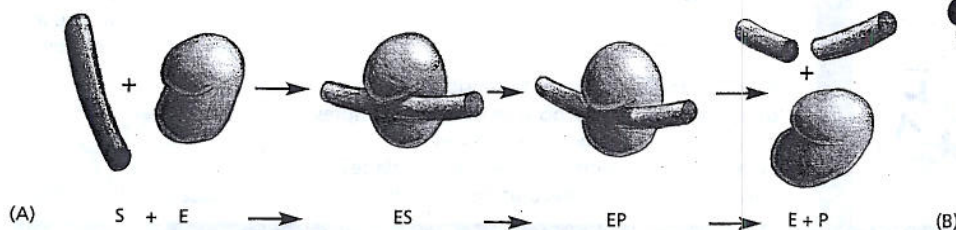
La reacción catalizada por la lisozima es una hidrólisis: la enzima agrega una molécula de agua a un enlace simple entre dos grupos de azúcar adyacentes de la cadena de polisacárido y, de este modo, causa la ruptura del enlace. La reacción es energéticamente favorable porque la energía libre de la cadena de polisacárido seccionada es más baja que la energía libre de la cadena intacta. Sin embargo, el polisacárido puro puede estar durante años en el agua sin ser hidrolizado en ningún grado detectable. Esto se debe a que hay una barrera de energía para estas reacciones, denominada *energía de activación* (véase capítulo 3). Para que la colisión de una molécula de agua rompa un enlace que une dos azúcares, la molécula de polisacárido tiene que ser llevada a una forma particular –el **estado de transición**– en el que los átomos alrededor del enlace presentan alteración de la geometría y la distribución de electrones. Esta distorsión de la molécula requiere un gran aporte de energía proveniente de colisiones moleculares aleatorias. En una solución acuosa a temperatura ambiente, la energía de este tipo de colisiones casi nunca supera la energía de activación; por lo tanto, la hidrólisis se produce con suma lentitud o no se produce.

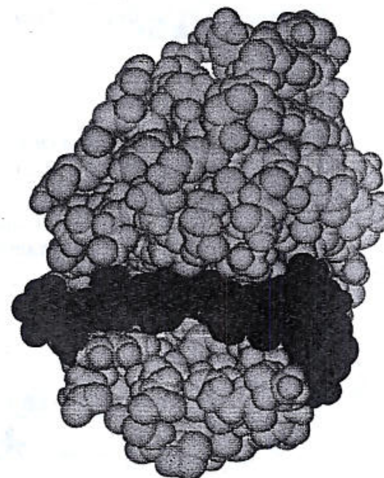
Aquí es donde interviene la enzima. Como todas las enzimas, la lisozima tiene un sitio de unión especial sobre su superficie, denominado **sitio activo**, que se adapta a los contornos de su molécula sustrato. En este sitio, se produce la catálisis de la reacción química. Como su sustrato es un polímero, el sitio activo de la lisozima es un surco largo que sujeta seis azúcares unidos al mismo tiempo. Tan pronto como el polisacárido se une y forma un complejo enzima-sustrato, la enzima lo corta mediante el agregado de una molécula de agua a uno de sus enlaces azúcar-azúcar. Después, se libera con rapidez la cadena seccionada, lo que deja libre a la enzima para futuros ciclos de reacción (Fig. 4-30).

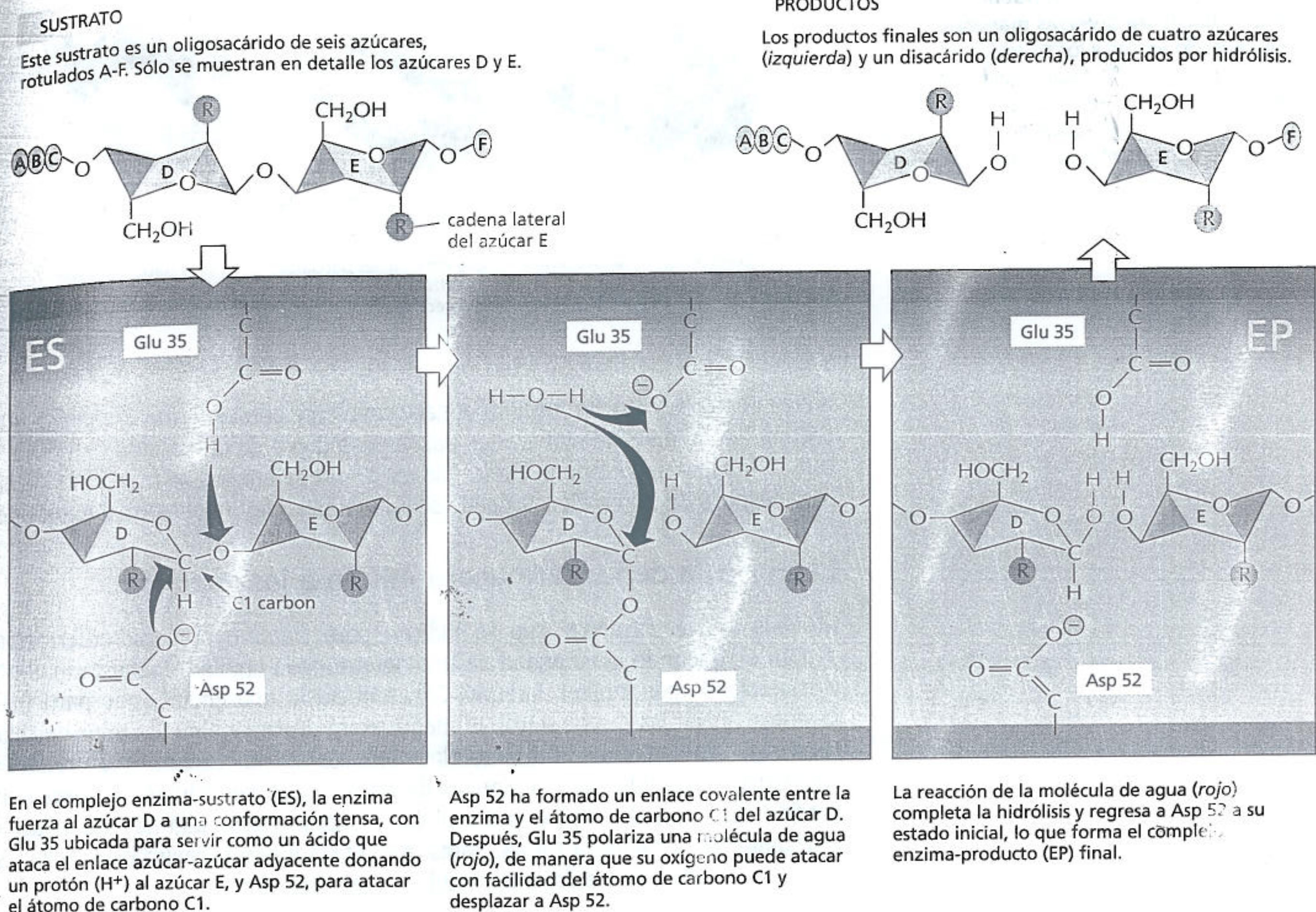
El proceso químico de base de la unión de la lisozima a su sustrato es el mismo que el de la unión de anticuerpos: la formación de múltiples enlaces no covalentes. Sin embargo, la lisozima mantiene su sustrato polisacárido de un modo que uno de los dos azúcares que participan en el enlace que va a ser roto es distorsionado de su conformación normal más estable. El enlace también es mantenido cerca de dos aminoácidos con cadenas laterales ácidas: un ácido glutámico y un ácido aspártico dentro del sitio activo.

Así, se crean condiciones en el microambiente del sitio activo de la lisozima que reducen mucho la energía de activación necesaria para que tenga lugar la hidró-

Figura 4-30. La lisozima escinde una cadena de polisacárido. (A) Esquema de la enzima lisozima (indicada con E), que cataliza el corte de una cadena de polisacárido, el sustrato (indicado con S). La enzima se une primero a la cadena para formar un complejo enzima-sustrato (ES), y después cataliza la fragmentación de un enlace covalente específico del esqueleto del polisacárido, lo que forma un complejo enzima-producto (EP) que se disocia con rapidez. La liberación de la cadena escindida (el producto P) deja a la enzima libre para actuar sobre otra molécula de sustrato. (B) Modelo espacial de la molécula lisozima unida a una porción corta de una cadena de polisacárido antes de la escisión. (B, cortesía de Richard J. Feldmann).







En el complejo enzima-sustrato (ES), la enzima fuerza al azúcar D a una conformación tensa, con Glu 35 ubicada para servir como un ácido que ataca el enlace azúcar-azúcar adyacente donando un protón (H^+) al azúcar E, y Asp 52, para atacar el átomo de carbono C1.

Asp 52 ha formado un enlace covalente entre la enzima y el átomo de carbono C1 del azúcar D. Después, Glu 35 polariza una molécula de agua (*rojo*), de manera que su oxígeno puede atacar con facilidad del átomo de carbono C1 y desplazar a Asp 52.

La reacción de la molécula de agua (*rojo*) completa la hidrólisis y regresa a Asp 52 a su estado inicial, lo que forma el complejo enzima-producto (EP) final.

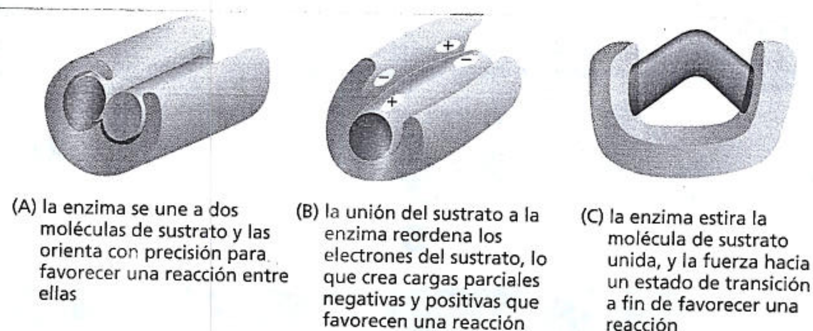
Figura 4-31. En el sitio activo de la lisozima, se produce la torsión y ruptura de los enlaces. La fila de arriba muestra el sustrato libre y los productos libres. Las tres láminas inferiores representan eventos secuenciales durante los que se rompe el enlace azúcar-azúcar. Obsérvese el cambio de conformación del azúcar D en el complejo enzima-sustrato en comparación con el sustrato libre; esta conformación favorece la formación del estado de transición. Se muestran la reacción y la estructura de la lisozima unida a su producto en la Película 4.8 y la Película 4.9. (Basado en D.J. Vocadlo y col., *Nature* 412:835-838, 2001. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

lisis. La figura 4-31 muestra los principales intermediarios de esta reacción catalizada enzimáticamente.

1. La enzima impone tensión a su sustrato unido (en este caso, un oligosacárido de seis azúcares) al incurvar algunos enlaces químicos críticos de un azúcar, de manera que la forma de éste se asemeja más estrechamente a la forma de los estados de transición de alta energía generados durante la reacción.
2. El ácido aspártico de carga negativa reacciona con el átomo de carbono C1 del azúcar distorsionado, lo que rompe este enlace azúcar-azúcar y deja al ácido aspártico unido covalentemente al sitio de fragmentación del enlace.
3. Ayudado por el ácido glutámico de carga negativa, una molécula de agua reacciona con el átomo de carbono C1, desplaza al ácido aspártico y completa el proceso de hidrólisis.

La reacción química global, desde la unión inicial del polisacárido en la superficie de la enzima hasta la liberación final de las cadenas seccionadas, se produce muchos millones de veces más rápido que en ausencia de la enzima.

Otras enzimas tienen mecanismos similares que disminuyen la energía de activación y aceleran las reacciones que catalizan. En las reacciones que involucran dos o más sustratos, el sitio activo también actúa como un molde o plantilla que acerca a los reactantes en la orientación apropiada de modo que se produzca la reacción química entre ellos (Fig. 4-32A). Como se vio para la lisozima, el sitio activo de una enzima contiene grupos químicos en una posición precisa que acelera una reacción al modificar la disposición de electrones de los sustratos (Fig. 4-32B). La unión a la enzima también cambia la forma de los sustratos al incurvar enlaces de manera de impulsar a un sustrato hacia un estado de transición particular (Fig. 4-32C). Por último, al igual que la lisozima, muchas enzimas participan íntima-



(A) la enzima se une a dos moléculas de sustrato y las orienta con precisión para favorecer una reacción entre ellas

(B) la unión del sustrato a la enzima reordena los electrones del sustrato, lo que crea cargas parciales negativas y positivas que favorecen una reacción

(C) la enzima estira la molécula de sustrato unida, y la fuerza hacia un estado de transición a fin de favorecer una reacción

Figura 4-32. Las enzimas pueden estimular la catálisis de diversas maneras. (A) Manteniendo juntos a los sustratos en una alineación precisa. (B) Estabilizando las cargas de los intermediarios de la reacción. (C) Modificando los ángulos de la unión en el sustrato para aumentar la velocidad de una reacción particular.

mente en la reacción al formar un enlace covalente efímero entre el sustrato y una cadena lateral del sitio activo. Los pasos posteriores de la reacción restablecen el estado original de la cadena lateral, de modo que la enzima se mantiene sin cambios después de la reacción y puede seguir catalizando muchas más reacciones.

La mayoría de los fármacos inhiben a las enzimas

Muchos de los fármacos que se indican para tratar o prevenir enfermedades actúan bloqueando la actividad de una determinada enzima. Las estatinas hipocolesterolemiantes inhiben la HMG-CoA-reductasa, una enzima que participa en la síntesis hepática de colesterol. El metotrexato destruye algunos tipos de células cancerosas al disminuir la dihidrofolato reductasa, una enzima que produce un compuesto requerido para la síntesis de DNA. Como las células cancerosas han perdido sistemas de control intracelulares importantes, algunas de ellas son inusualmente sensibles a tratamientos que interrumpen la replicación de los cromosomas, lo que las vuelve susceptibles al metotrexato.

Con frecuencia, las compañías farmacéuticas desarrollan fármacos utilizando, primero, métodos automatizados para investigar bibliotecas masivas de compuestos a fin de hallar sustancias químicas capaces de inhibir la actividad de una enzima de interés. Después, pueden modificar químicamente las más promisorias para tornarlas aun más eficaces al aumentar su afinidad de unión y especificidad por la enzima diana. Como se verá en el capítulo 20, el fármaco antineoplásico Gleevac® fue diseñado para inhibir en forma específica una enzima cuyo comportamiento aberrante es necesario para el crecimiento de un tipo de cáncer denominado leucemia mieloide crónica. El fármaco se une estrechamente al surco de unión al sustrato de la enzima, lo que bloquea su actividad (véase Fig. 20-53).

Moléculas pequeñas estrechamente unidas agregan funciones adicionales a las proteínas

Aunque el orden de los aminoácidos de las proteínas les da a estas moléculas la forma y la versatilidad para realizar diferentes funciones, a veces los aminoácidos por sí mismos no son suficientes. Así como usamos las herramientas para potenciar y extender las capacidades de nuestras manos, las proteínas suelen emplear pequeñas moléculas no proteicas para realizar funciones que serían difíciles o imposibles si sólo se utilizaran aminoácidos. Por ejemplo, la proteína fotorreceptora *rodopsina* –que es el pigmento púrpura sensible a la luz elaborado por los bastones de la retina– detecta la luz por medio de una pequeña molécula, el *retinal*, unida a la proteína mediante un enlace covalente con una cadena lateral de lisina (Fig. 4-33A). El retinal cambia su forma cuando absorbe un fotón de luz, y la rodopsina amplifica este cambio desencadenando una cascada de reacciones enzimáticas que finalmente determinan que se conduzca al cerebro una señal eléctrica.

Otro ejemplo de una proteína que contiene una porción no proteica esencial para su función es la hemoglobina (véase Fig. 4-20). Una molécula de hemoglobina

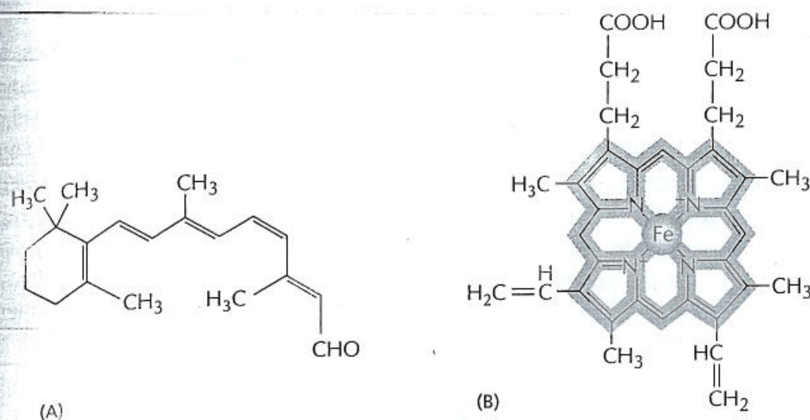


Figura 4-33. El retinal y el hemo potencian la función de ciertas proteínas. (A) Estructura del retinal, la molécula sensible a la luz unida a la rodopsina en nuestros ojos. (B) Estructura del grupo hemo, en la que se muestra el anillo de carbonos en *rojo* y el átomo de hierro en su centro en *anaranjado*. Un grupo hemo está estrechamente unido a cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas de la hemoglobina, la proteína transportadora de oxígeno cuya estructura se ilustró en la figura 4-20.

transporta cuatro grupos *hemo*, moléculas en forma de anillo que tienen cada una un único átomo de hierro central (Fig. 4-33B), unidos por enlaces no covalentes. El hemo le da a la hemoglobina (y a la sangre) su color rojo. Mediante la unión reversible del gas oxígeno disuelto a través de su átomo de hierro, el hemo posibilita que la hemoglobina capte oxígeno en los pulmones y lo libere en los tejidos.

Cuando estas pequeñas moléculas están unidas de manera covalente y permanente a su proteína, se convierten en una parte integral de la molécula proteica. Como se verá en el capítulo 11, las proteínas suelen estar ancladas a las membranas celulares por medio de moléculas lipídicas unidas covalentemente. Y las proteínas de membrana expuestas en la superficie celular, así como las proteínas secretadas al exterior de la célula, en general son modificadas mediante el agregado covalente de azúcares y oligosacáridos.

Las enzimas también utilizan moléculas no proteicas: suelen tener una molécula pequeña o un átomo de metal asociado con su sitio activo que ayuda en la función catalítica. La *carboxipeptidasa*, una enzima que corta cadenas polipeptídicas, transporta un ión de cinc estrechamente unido a su sitio activo. Durante la fragmentación de un enlace peptídico por la carboxipeptidasa, el ión de cinc forma un enlace transitorio con uno de los átomos del sustrato, lo que contribuye a la reacción de hidrólisis. En otras enzimas, una pequeña molécula orgánica cumple un propósito similar. La *biotina*, por ejemplo, se encuentra en enzimas que transfieren un grupo carboxilo (–COO-) de una molécula a otra (véase Fig. 3-37). Participa en estas reacciones mediante la formación de un enlace covalente transitorio con el grupo –COO- que será transferido. Esta pequeña molécula está mejor situada para su función que cualquiera de los aminoácidos utilizados para fabricar proteínas. Como los seres humanos no pueden sintetizar biotina, ésta se debe obtener de la dieta; de ahí que se la clasifique como una *vitamina*. De modo similar, se requieren otras vitaminas igualmente necesarias para fabricar moléculas pequeñas que son componentes esenciales de nuestras proteínas; por ejemplo, se necesita vitamina A de la dieta para producir retinal, la parte fotosensible de la rodopsina.

CÓMO SE CONTROLAN LAS PROTEÍNAS

Hasta ahora, se ha examinado la manera en la que las proteínas llevan a cabo su trabajo: cómo la unión a otras proteínas o a moléculas pequeñas les permite desempeñar sus funciones específicas. Pero dentro de la célula, la mayor parte de las proteínas y enzimas no trabajan en forma continua ni a máxima velocidad. Por el contrario, su actividad está regulada de manera coordinada, de esta forma la célula puede mantenerse a sí misma en un estado óptimo, en el que sólo genera las moléculas que requiere para desarrollarse en las condiciones presentes. Mediante la coordinación de cuándo y cuán enérgicamente funcionan las proteínas, la célula se asegura de no agotar sus reservas energéticas por acumulación de moléculas que no requiere y de no desperdiciar sus reservas de sustratos críticos. Ahora se considerará cómo controlan las células la actividad de proteínas y enzimas.

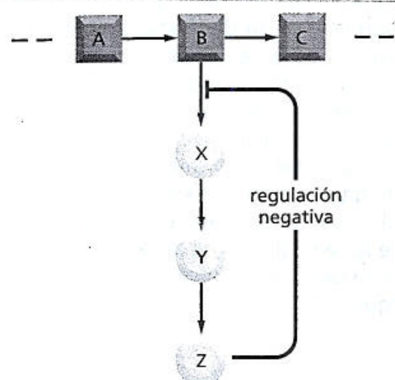


Figura 4-34. La inhibición por retroalimentación regula el flujo a través de una vía biosintética. B es el primer metabolito de una vía que da el producto final Z. Z inhibe a la primera enzima que es específica para su síntesis, y de esta manera controla su propia concentración en la célula. Este es un ejemplo de regulación negativa.

La regulación de la actividad de las proteínas tiene lugar en muchos niveles. En un nivel, la célula controla cuántas moléculas de cada enzima fabrica regulando la expresión del gen que codifica esa proteína (véase capítulo 8). En otro nivel, la célula controla las actividades enzimáticas confinando grupos de enzimas a compartimientos subcelulares específicos, rodeados con frecuencia –aunque no siempre– de membranas definidas (véanse Caps. 14 y 15). Pero el proceso más rápido y general utilizado para ajustar las velocidades de reacción opera en la propia enzima. Aunque las proteínas se pueden activar o desactivar mediante diversos mecanismos, como se verá a continuación, todos hacen que, de alguna manera, la proteína modifique su forma y, por lo tanto, su función.

Las actividades catalíticas de las enzimas suelen ser reguladas por otras moléculas

Una célula viva contiene miles de enzimas, muchas de las cuales operan al mismo tiempo y en el mismo volumen pequeño del citosol. Por su acción catalítica, las enzimas generan una compleja red de vías metabólicas, compuestas por cadenas de reacciones químicas en las que el producto de una enzima se convierte en el sustrato de la siguiente. En este laberinto de vías, hay muchos puntos de ramificación en donde diferentes enzimas compiten por el mismo sustrato. El sistema es tan complejo que se necesitan controles elaborados para regular cuándo y cuán rápidamente se produce cada reacción.

El tipo más común de control se produce cuando otra molécula distinta de un sustrato se une a una enzima en un sitio regulador especial fuera del sitio activo, lo que altera la velocidad con que la enzima convierte sus sustratos en productos. En la **inhibición por retroalimentación**, una enzima que actúa al principio de una vía de reacción es inhibida por uno de los productos finales de esa vía. Por lo tanto, si comienzan a acumularse grandes cantidades de producto final, éste se une a una de las enzimas iniciales y enlentece su actividad catalítica, lo que limita aun más el ingreso de sustratos en esa vía de reacción (Fig. 4-34). Donde las vías se ramifican o cruzan hay frecuentemente múltiples puntos de control por distintos productos finales, cada uno de los cuales funciona regulando su propia síntesis (Fig. 4-35). La inhibición por retroalimentación puede funcionar en forma casi instantánea y es revertida con rapidez cuando descienden los niveles de producto.

La inhibición por retroalimentación es una *regulación negativa*: impide que una enzima actúe. Las enzimas también pueden estar sujetas a *regulación positiva*, en la que la actividad enzimática es estimulada por una molécula reguladora en lugar de ser inhibida. Se observa regulación positiva cuando un producto de una rama de un laberinto metabólico estimula la actividad de una enzima de otra vía. Por ejemplo, la acumulación de ADP activa a varias enzimas que participan en la oxidación de las moléculas de azúcar, lo que estimula a la célula a convertir más ADP en ATP.

PREGUNTA 4-7

Observe el dibujo de la figura 4-34. ¿Qué ocurriría si, en lugar de la retroalimentación indicada,

A. La inhibición por retroalimentación de Z afecta sólo el paso B → C?

B. La inhibición por retroalimentación de Z afecta sólo el paso Y → Z?

C. Z es un regulador positivo del paso B → X?

D. Z es un regulador positivo del paso B → C?

En cada caso, analice cuán útiles serían estos esquemas reguladores para una célula.

Las enzimas alostéricas tienen dos sitios de unión que influyen uno en el otro

Inicialmente, una característica de la inhibición por retroalimentación resultó desconcertante para quienes la descubrieron: la molécula reguladora tiene una forma que es por completo distinta de la que presenta el sustrato preferido de la enzima. De hecho, cuando se descubrió esta forma de regulación en la década de 1960, se la denominó alostería (del griego *allo*, "otro," y *stere*, "sólido" o "forma"). A medida que se aprendió más acerca de la inhibición por retroalimentación, los investigadores se dieron cuenta de que muchas enzimas deben tener, por lo menos, dos sitios de unión diferentes en su superficie: el sitio activo, que reconoce los sustratos, y uno o más sitios, que reconocen las moléculas reguladoras. Además, estos sitios de sustrato y reguladores se deben "comunicar" de una

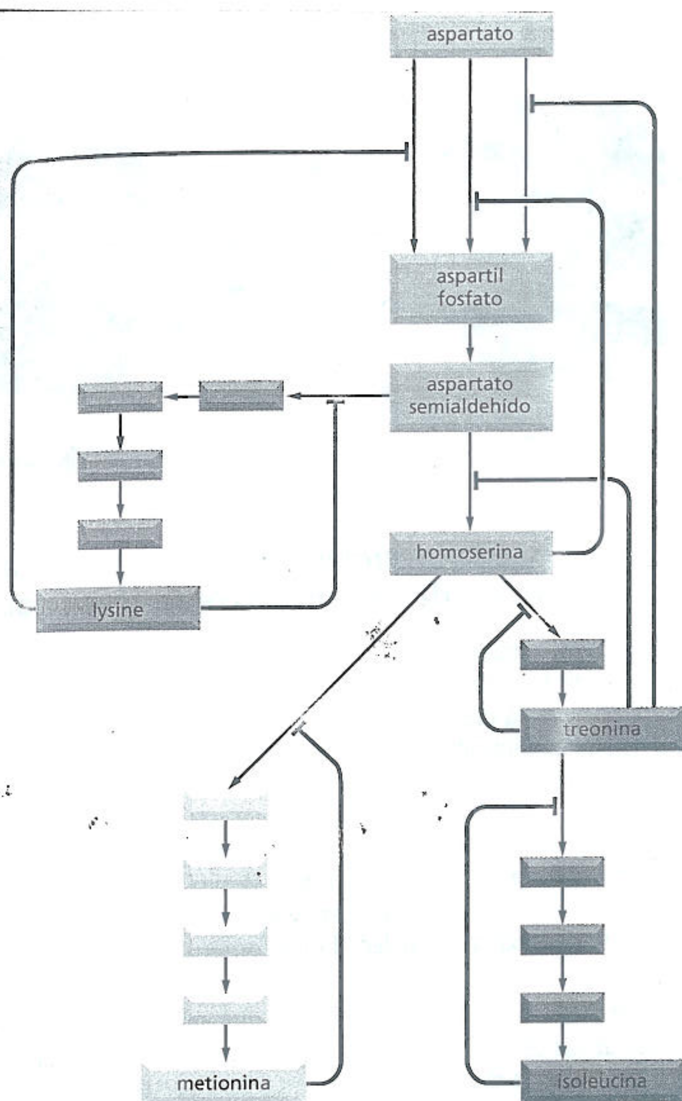


Figura 4-35. La inhibición por retroalimentación en múltiples sitios regula reacciones metabólicas conectadas. Se ilustran las vías biosintéticas de cuatro aminoácidos diferentes de bacterias a partir del aminoácido ácido aspártico. Las líneas *rojas* indican las posiciones en las que los productos inhiben por retroalimentación a las enzimas. Cada aminoácido controla a la primera enzima específica de su propia síntesis y de este modo regula sus propios niveles y evita una acumulación poco económica de intermediarios. Los productos también pueden inhibir por separado el establecimiento inicial de las reacciones comunes para toda la síntesis; en este caso, tres enzimas diferentes catalizan la reacción inicial, inhibida cada una por un producto distinto.

manera que permita que los procesos catalíticos en el sitio activo sean influidos por la unión de la molécula reguladora en un sitio distinto.

En la actualidad, se sabe que la interacción entre sitios que se localizan en regiones separadas de una molécula proteica depende de *cambios conformacionales* de la proteína: la unión a uno de los sitios induce un cambio de la estructura de la proteína de una forma plegada a una forma plegada levemente diferente. Muchas enzimas tienen dos conformaciones que difieren en actividad, estabilizada cada una por la unión de diferentes ligandos. Durante la inhibición por retroalimentación, por ejemplo, la unión de un inhibidor a un sitio de la proteína determina que ésta cambie a una conformación en la que su sitio activo –localizado en otra parte de la molécula– se adapta menos a la molécula de sustrato (Fig. 4-36).

Muchas moléculas proteicas –casi la mayoría– son **alostéricas**: pueden adoptar dos o más conformaciones ligeramente diferentes, y su actividad puede ser regulada por el cambio de una a otra forma. Esto es válido no sólo para las enzimas, sino también para muchas otras proteínas: p. ej., receptores, proteínas estructurales y proteínas motoras. El mecanismo químico involucrado es muy simple en lo conceptual: como cada conformación proteica tendrá contornos superficiales algo diferentes, los sitios de unión de la proteína para los ligandos se modificarán cuando la proteína cambie de forma. Cada ligando estabilizará la conformación que lo une con mayor fuerza, y en concentraciones suficientemente elevadas, el ligando tenderá a "cambiar" la población de proteínas a la conformación que lo favorece (Fig. 4-37).

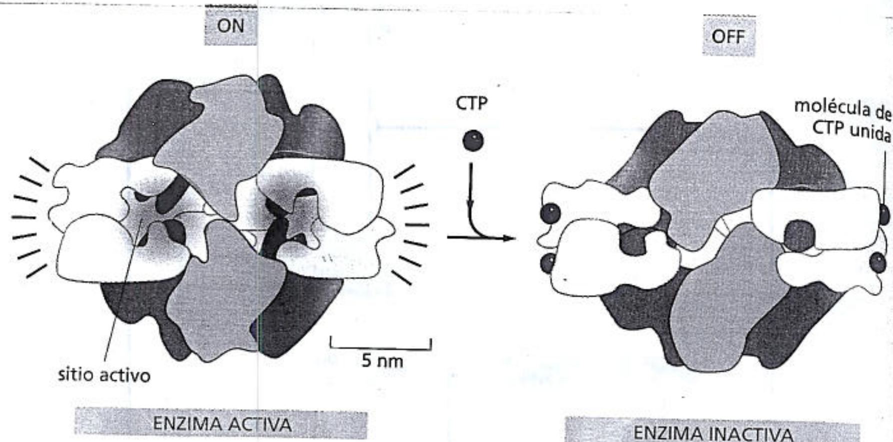


Figura 4-36. La inhibición por retroalimentación desencadena un cambio conformacional. Una enzima utilizada en los estudios iniciales de la regulación alostérica fue la aspartato transcarbamilasa de *E. coli*. Esta enzima de gran tamaño y con múltiples subunidades (véase Fig. 4-9) cataliza una reacción importante que inicia la síntesis del anillo de pirimidina de los nucleótidos C, U y T. Uno de los productos finales de esta vía, la citosina trifosfato (CTP), se une a la enzima y la desactiva cuando la CTP es abundante. Este esquema muestra el cambio conformacional que se produce cuando se desactiva la enzima por la unión de CTP. Obsérvese que la aspartato transcarbamilasa mostrada en la figura 4-9 se visualiza desde arriba. Esta figura ilustra la enzima visualizada de lado.

La fosforilación puede controlar la actividad proteica mediante la inducción de un cambio conformacional

Las enzimas no son reguladas sólo por la unión de moléculas pequeñas. Otro método utilizado con frecuencia por las células eucariontes para regular la actividad proteica consiste en la unión covalente de un grupo fosfato a una de las cadenas laterales de sus aminoácidos. Como cada grupo fosfato transporta dos cargas negativas, el agregado catalizado por enzimas de un grupo fosfato a una proteína puede causar un cambio conformacional importante al atraer, por ejemplo, a un grupo de cadenas laterales de aminoácidos con carga positiva. A su vez, este cambio conformacional puede afectar la unión de ligandos en otro lugar de la superficie de la proteína, lo que altera su actividad. La eliminación del grupo fosfato por una segunda enzima restablece la conformación original y la actividad inicial de la proteína.

Esta **fosforilación proteica** reversible controla la actividad de muchos tipos diferentes de proteínas de las células eucariontes; de hecho, éste método está tan difundido que más de un tercio de las alrededor de 10.000 proteínas de una célula de mamífero típica parece estar fosforilado en un momento dado. Con frecuencia, el agregado y la eliminación de grupos fosfatos de proteínas específicas se produce en respuesta a señales que especifican algún cambio del estado celular. Por ejemplo, la complicada serie de procesos que tienen lugar cuando una célula eucarionte se divide se calculan de esta manera (véase capítulo 18). Y muchas de las señales generadas por hormonas y neurotransmisores son transportadas de la membrana plasmática al núcleo mediante una cascada de fenómenos de fosforilación proteica (véase capítulo 16).

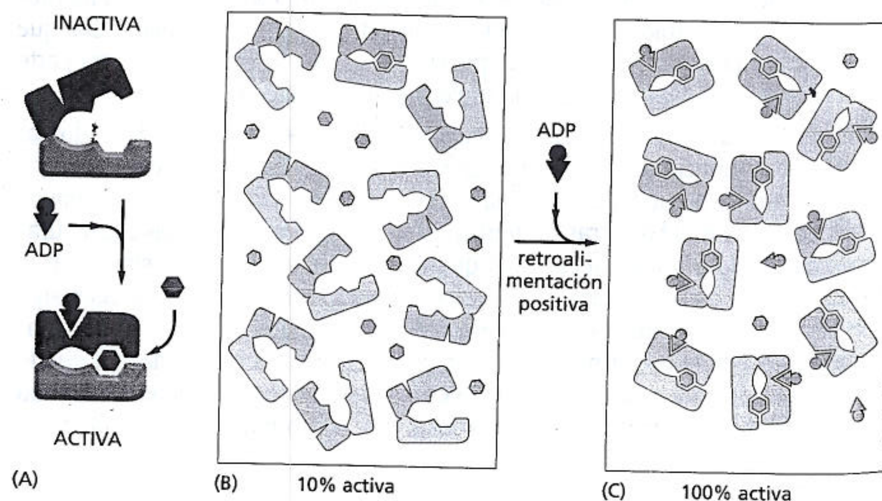


Figura 4-37. La unión del ligando incide en el equilibrio entre dos conformaciones de una proteína. Este esquema muestra a una enzima hipotética en la que un aumento de la concentración de moléculas de ADP (cuñas *rojas*) actúa como activador que aumenta la velocidad con la cual son oxidadas las moléculas de azúcar (hexágonos *azules*). (A) Esta enzima hipotética se regula alostéricamente. (B) Si no está presente el ADP, sólo una pequeña fracción de las moléculas adopta espontáneamente la conformación activa (cerrada); la mayor parte está en la conformación inactiva (abierta). (C) Como el ADP sólo se puede unir a la proteína en su conformación cerrada, el agregado de ADP disminuye la energía de la conformación cerrada y bloquea a casi todas las moléculas en la forma activa. Por ejemplo, una enzima de este tipo se podría utilizar en vías respiratorias para detectar cuándo se está acumulando ADP en la célula y aumentar la oxidación de azúcares a fin de que aporten más energía para la síntesis de ATP a partir de ADP.

La fosforilación proteica implica la transferencia catalizada enzimáticamente del grupo fosfato terminal del ATP al grupo hidroxilo de una serina, treonina o tirosina de la cadena lateral de la proteína. Esta reacción se cataliza por una **proteincinasa**. La acción inversa –eliminación del grupo fosfato o *desfosforilación*– es catalizada por una **proteinfosfatasa** (Fig. 4-38A). La fosforilación puede estimular la actividad de la proteína o inhibirla, lo que depende de la proteína considerada y del sitio en el que es fosforilada (Fig. 4-38B). Las células contienen cientos de proteincinasas distintas, cada una responsable de la fosforilación de una proteína o un grupo de proteínas diferentes. Las células también contienen muchas proteinfosfatasas diferentes; algunas son muy específicas y eliminan grupos fosfatos de una o unas pocas proteínas, mientras que otras actúan sobre un amplio espectro de proteínas. El estado de fosforilación de una proteína en cualquier momento dado y, por ende, su actividad dependerá de las actividades relativas de las proteincinasas y de las proteinfosfatasas que actúan sobre ella.

En muchas proteínas, se agrega un grupo fosfato a una cadena lateral particular y luego se lo elimina en un ciclo continuo. Los ciclos de fosforilación de este tipo permiten que las proteínas cambien rápidamente de un estado a otro. Cuanto más rápidamente proceda el ciclo, más rápido se puede modificar la concentración de una proteína fosforilada en respuesta a un estímulo repentino que aumenta su velocidad de fosforilación. Sin embargo, mantener el ciclo en actividad insume energía porque se hidroliza una molécula de ATP con cada vuelta del ciclo.

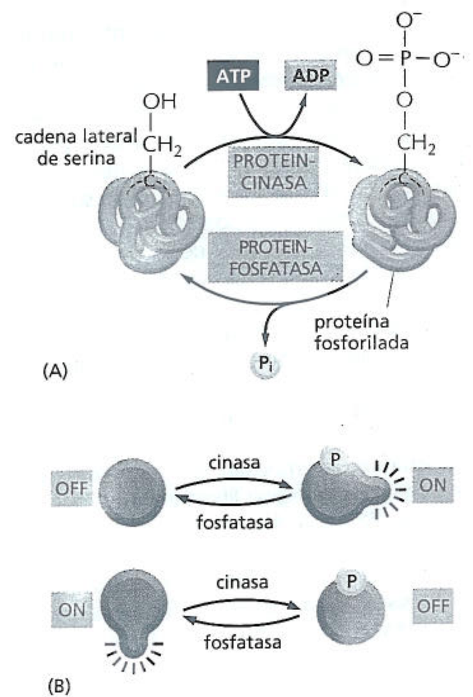


Figura 4-38. La fosforilación proteica es un medio muy común de regulación de la actividad de las proteínas. Muchos miles de proteínas de una célula eucarionte típica se modifican por el agregado covalente de un grupo fosfato. (A) La reacción general, mostrada aquí, supone la transferencia de un grupo fosfato del ATP a una cadena lateral de un aminoácido de la proteína diana por una proteincinasa. La eliminación de un grupo fosfato es catalizada por una segunda enzima, una proteinfosfatasa. En este ejemplo, se agrega fosfato a una cadena lateral de serina; en otros casos, el fosfato se une al grupo –OH de una treonina o una tirosina de la proteína. (B) La fosforilación de una proteína por una proteincinasa puede aumentar o disminuir la actividad proteica, lo que depende del sitio de fosforilación y de la estructura de la proteína.

Las proteínas que unen GTP también se regulan por la ganancia y pérdida cíclica de un grupo fosfato

Las células eucariontes tienen una segunda manera de regular la actividad de una proteína mediante el agregado y la eliminación de un grupo fosfato. En este caso, en lugar de ser transferido enzimáticamente del ATP a la proteína, el fosfato forma parte de un nucleótido de guanina –sea la guanosina trifosfato (GTP) o bien la guanosina difosfato (GDP)– que se une estrechamente a la proteína. Estas proteínas de unión a GTP están en sus conformaciones activas con GTP unido; la propia proteína hidroliza después el GTP a GDP –con liberación de un fosfato– y cambia a una conformación inactiva. Como en el caso de la fosforilación proteica, este proceso es reversible. La conformación activa se recupera por disociación del GDP, seguida de la unión de una molécula nueva de GTP (Fig. 4-39).

Hay gran número de proteínas de unión a GTP relacionadas que funcionan como interruptores moleculares en las células. La disociación de GDP y su reemplazo por GTP, que induce activación, a menudo es estimulada en respuesta a una señal recibida por la célula. Las proteínas de unión a GTP se suelen unir a otras proteínas y controlar su actividad, y su papel crucial en las vías de señalización intracelular se analizará en el capítulo 16. Aquí, se comentará su mecanismo de acción general al examinar el factor de elongación bacteriana EF-Tu, una pequeña proteína de unión a GTP que contribuye a cargar moléculas de tRNA en los ribosomas durante la síntesis proteica (véase capítulo 7).

El análisis de la estructura tridimensional de EF-Tu reveló cómo una transición alostérica desencadenada por la ganancia o la pérdida de fosfatos del nucleótido de guanina unido puede causar un cambio importante de conformación en una

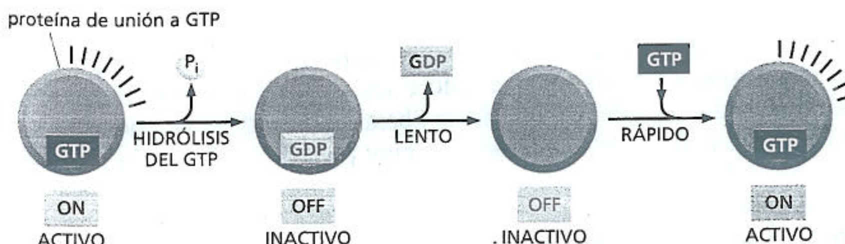


Figura 4-39. Las proteínas de unión a GTP forman interruptores moleculares. La actividad de una proteína de unión a GTP (*verde*) suele requerir la presencia de una molécula de GTP estrechamente unidas (activación). La hidrólisis de esta molécula de GTP produce GDP y fosfato inorgánico (P_i) e induce una conformación diferente de la proteína en general inactiva (desactivación). Como se muestra aquí, el reajuste del interruptor exige la disociación del GDP estrechamente unido, una etapa lenta que es acelerada en gran medida por señales específicas; una vez que el GDP se disocia, se vuelve a unir con rapidez una molécula de GTP.

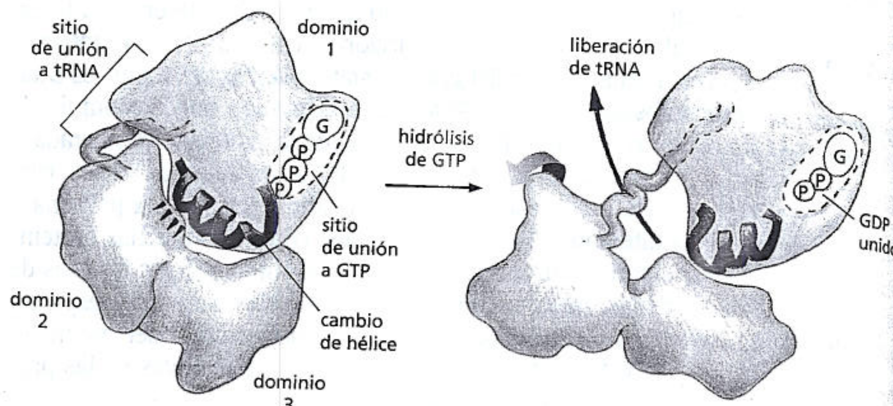


Figura 4-40. Un gran cambio conformacional se produce en la EF-Tu como respuesta a la hidrólisis de nucleótidos. La proteína de unión a GTP, EF-Tu, une tRNA al ribosoma y participa en la elongación de la cadena polipeptídica durante la síntesis proteica. La hidrólisis del GTP unido a EF-Tu causa sólo un pequeño cambio en la posición de los aminoácidos en el sitio de unión del nucleótido (equivalente a unas pocas veces el diámetro de un átomo de hidrógeno). Pero este pequeño cambio es magnificado por cambios conformacionales dentro de la proteína lo que produce un movimiento mucho mayor. La hidrólisis del GTP libera un enlace intramolecular, como un "cerrojo" (guiones *rojos* en la estructura de la *izquierda*), que les permite a los dominios 2 y 3 girar libremente y rotar cerca de 90° hacia el observador. Esto genera un cambio importante de la forma y libera el tRNA, lo cual es necesario para que proceda la síntesis proteica (Película 4.10). Todas estas estructuras fueron determinadas mediante cristalografía de rayos X.

proteína de unión a GTP. La **figura 4-40** muestra de qué manera la pérdida de un solo grupo fosfato, que inicialmente causa sólo un movimiento mínimo de alrededor de 0,1 nm en el sitio de unión, es magnificado por la proteína creando un movimiento 50 veces mayor. Cambios de forma sustanciales de este tipo también son la base de los grandes movimientos originados por las variedades de proteínas que se consideran a continuación.

La hidrólisis de nucleótidos permite a las proteínas motoras producir grandes movimientos en las células

Se ha visto cómo los cambios conformacionales de las proteínas desempeñan una parte central en la regulación enzimática y en la señalización celular. Sin embargo, estos cambios también tienen otro efecto importante en el funcionamiento de la célula: permiten que las proteínas cuya principal función es mover a otras moléculas, las **proteínas motoras**, generen las fuerzas responsables de la contracción muscular y de muchos de los movimientos celulares de proporción. Las proteínas motoras también son responsables de movimientos intracelulares en menor escala: el desplazamiento de los cromosomas hacia los polos celulares durante la mitosis (véase capítulo 19), el movimiento de orgánulos a lo largo de los carriles moleculares dentro de la célula (véase capítulo 17) y el traslado de enzimas por la cadena de DNA durante la síntesis de una nueva molécula de DNA (véase capítulo 6). Por lo tanto, es esencial conocer la base molecular del comportamiento celular para comprender la manera en que pueden operar las proteínas como moléculas con partes móviles.

¿Cómo se utilizan los cambios de conformación de las proteínas para generar movimientos ordenados en las células? Por ejemplo, si se requiere una proteína para recorrer una hebra angosta, como una molécula de DNA, puede hacerlo mediante una serie de cambios conformacionales, según se ilustra en la **figura 4-41**. Sin embargo, sin nada que impulse los cambios en una secuencia ordenada –sólo en una dirección–, éstos serán perfectamente reversibles, y la proteína vagará al azar hacia un lado y otro.

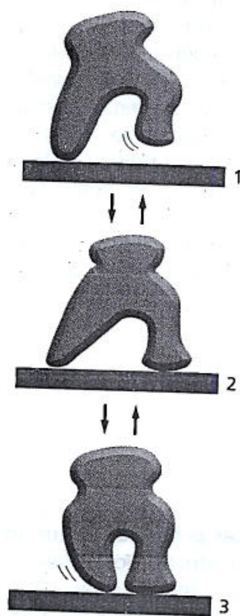


Figura 4-41. Los cambios de conformación permiten que una proteína "se desplace" a lo largo de un filamento o hebra. Las tres conformaciones diferentes de esta proteína le permiten desplazarse hacia atrás y hacia delante de manera aleatoria mientras está unida a una hebra o filamento. Pero de no mediar un aporte de energía que impulse este movimiento en una sola dirección, la proteína sólo se desplazará sin rumbo y no llegará a ningún lado.

Para que la serie de cambios conformacionales sea unidireccional –y obligar al ciclo entero a orientarse en una dirección– es suficiente volver irreversible cualquiera de los pasos. En la mayor parte de las proteínas capaces de desplazarse en una sola dirección por grandes distancias, esta irreversibilidad se logra mediante el acoplamiento de uno de los cambios conformacionales a la hidrólisis de una molécula de ATP unida a la proteína, como se ilustra en el esquema de la **figura 4-42**. El mecanismo es similar al que induce los cambios de forma alostéricos mediados por la hidrólisis de GTP. Como se libera gran cantidad de energía libre cuando el ATP (o el GTP) es hidrolizado, es muy poco probable que la proteína que se une al nucleótido experimente un cambio de forma inverso –como el requerido para un movimiento retrógrado– porque esto exigiría también que se revirtiera la hidrólisis del ATP mediante el agregado de una molécula de fosfato al ADP para formar ATP. Este comportamiento es desfavorable desde el punto de vista ter-

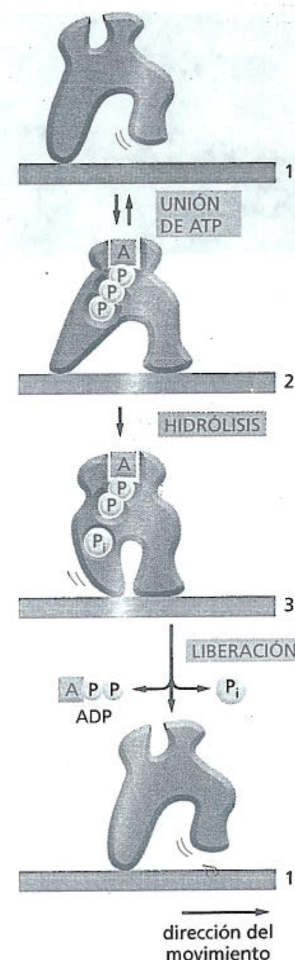


Figura 4-42. Una proteína motora alostérica, impulsada por la hidrólisis del ATP, se mueve en una dirección. La hidrólisis de una molécula de ATP unida impulsa una transición ordenada entre tres conformaciones. Como una de estas transiciones –el cambio de la conformación 2 a la conformación 3–está acoplada a la hidrólisis del ATP, todo el ciclo es esencialmente irreversible. Mediante ciclos repetidos, la proteína se desplaza continuamente a la derecha a lo largo de la hebra.

modinámico y, por lo tanto, muy improbable. En consecuencia, las proteínas se mueven con rapidez en sentido anterógrado.

Muchas proteínas motoras generan movimientos direccionales de este modo general, como la proteína motora del músculo, *miosina*, que "se desplaza" a lo largo de los filamentos de actina provocando la contracción muscular (véase capítulo 17), y la proteína *cinesina*, que interviene en los movimientos de los cromosomas durante la mitosis (véase capítulo 18). Este tipo de movimientos pueden ser rápidos: algunas de las proteínas motoras que participan en la replicación del DNA se impulsan a lo largo de la cadena de DNA a velocidades de hasta 1.000 nucleótidos por segundo.

Las proteínas suelen formar grandes complejos que funcionan como maquinarias proteicas

A medida que se avanza de proteínas pequeñas de un solo dominio a proteínas grandes formadas a partir de muchos dominios, las funciones que las proteínas pueden llevar a cabo se vuelven más elaboradas. Sin embargo, las tareas más impresionantes son realizadas por grandes ensamblajes de proteínas formados por numerosas moléculas proteicas. Ahora que es posible reconstruir en el laboratorio procesos biológicos en sistemas acelulares, resulta evidente que cada proceso central de una célula –como la replicación del DNA, la síntesis de proteínas, la evaginación de vesículas y la señalización transmembrana– es catalizada por un conjunto relacionado de diez o más proteínas, altamente coordinadas. En la mayoría de estas **maquinarias proteicas**, la hidrólisis de nucleósidos trifosfato unidos (ATP o GTP) impulsa una serie ordenada de cambios conformacionales en algunas de las subunidades proteicas, que permite el movimiento coordinado del ensamblaje proteico. De este modo, las enzimas apropiadas pueden ser trasladadas directamente a las posiciones donde son necesarias para llevar a cabo reacciones sucesivas de una serie, como en la síntesis de proteínas en un ribosoma (véase capítulo 7) o en la replicación del DNA, donde un gran complejo multiproteico se mueve con rapidez a lo largo del DNA. La **figura 4-43** ilustra una analogía mecánica simple.

PREGUNTA 4-8

Explique cómo la fosforilación y la unión de un nucleótido pueden ser utilizadas para regular la actividad de una proteína. ¿Cuáles supone que son las ventajas de una u otra forma de regulación?

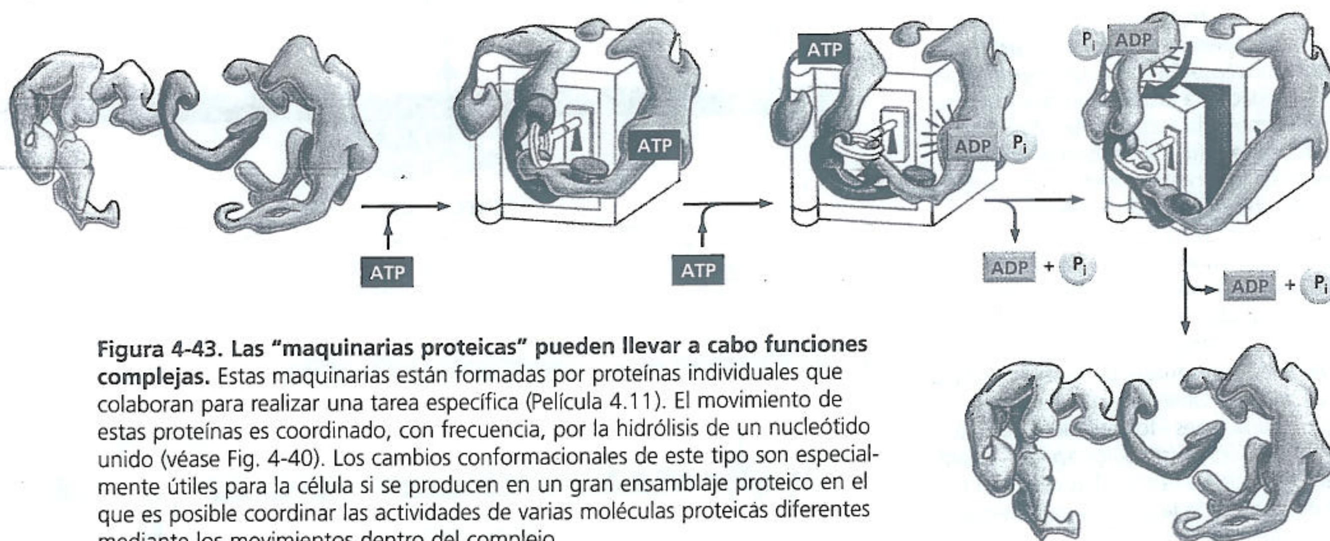


Figura 4-43. Las "maquinarias proteicas" pueden llevar a cabo funciones complejas. Estas maquinarias están formadas por proteínas individuales que colaboran para realizar una tarea específica (Película 4.11). El movimiento de estas proteínas es coordinado, con frecuencia, por la hidrólisis de un nucleótido unido (véase Fig. 4-40). Los cambios conformacionales de este tipo son especialmente útiles para la célula si se producen en un gran ensamblaje proteico en el que es posible coordinar las actividades de varias moléculas proteicas diferentes mediante los movimientos dentro del complejo.

PREGUNTA 4-9

Explique por qué las enzimas en la figura 4-43 tienen mayor ventaja en la apertura de la caja de seguridad si funcionan como un complejo en lugar de actuar en forma independiente de manera secuencial.

Durante la evolución, las células han construido maquinarias proteicas capaces de llevar a cabo la mayor parte de las reacciones biológicas. Las células emplean maquinarias proteicas por la misma razón que los seres humanos inventaron aparatos mecánicos y electrónicos: casi en cualquier tarea, las manipulaciones que están espacial y temporalmente coordinadas mediante procesos ligados son mucho más eficientes que el uso secuencial de herramientas individuales.

La modificación covalente controla la localización y el ensamblaje de las maquinarias proteicas

Las maquinarias proteicas y otros complejos proteicos desempeñan un papel importante en la vida de la célula. Pero estos complejos no se encuentran en el interior de la células, preensamblados y listos para la acción. Hace poco se ha esclarecido que la mayoría de las maquinarias proteicas se forman en lugares determinados de la célula y que son activadas sólo en el sitio y el momento en los que se las necesita. Por lo general, esta movilización se realiza por el agregado covalente de un grupo modificador a una o más cadenas laterales específicas de aminoácidos de las proteínas participantes.

En la célula, se pueden producir más de 200 tipos de modificaciones covalentes, cada una de las cuales ayuda a regular la función de las proteínas. Hasta ahora, se ha analizado la adición y eliminación de grupos fosfato. Como se observó antes, la fosforilación puede aumentar o disminuir la actividad de una proteína (véase Fig. 4-38). Pero también puede promover el ensamblaje de proteínas en complejos más grandes. Por ejemplo, las señales extracelulares pueden causar la fosforilación de una clase de proteínas transmembrana, denominadas *receptor tirosincinasa*; esta fosforilación suele desencadenar el ensamblaje y la activación de complejos intracelulares elaborados de proteínas de señalización, que transmiten el mensaje para crecer o dividirse (véase Fig. 16-30). Otras modificaciones covalentes cumplen diferentes funciones reguladoras. El agregado del ácido graso palmitato a un residuo cisteína induce la asociación de una proteína con las membranas celulares. La unión de ubicuitina, un polipéptido de 76 aminoácidos, puede convertir a una proteína en una diana para la degradación, como se verá en el capítulo 7. Todos estos grupos son añadidos o eliminados enzimáticamente según las necesidades de la célula.

En la actualidad, se conoce un gran número de proteínas que son modificadas en más de una cadena lateral de aminoácidos. La proteína p53, que desempeña un

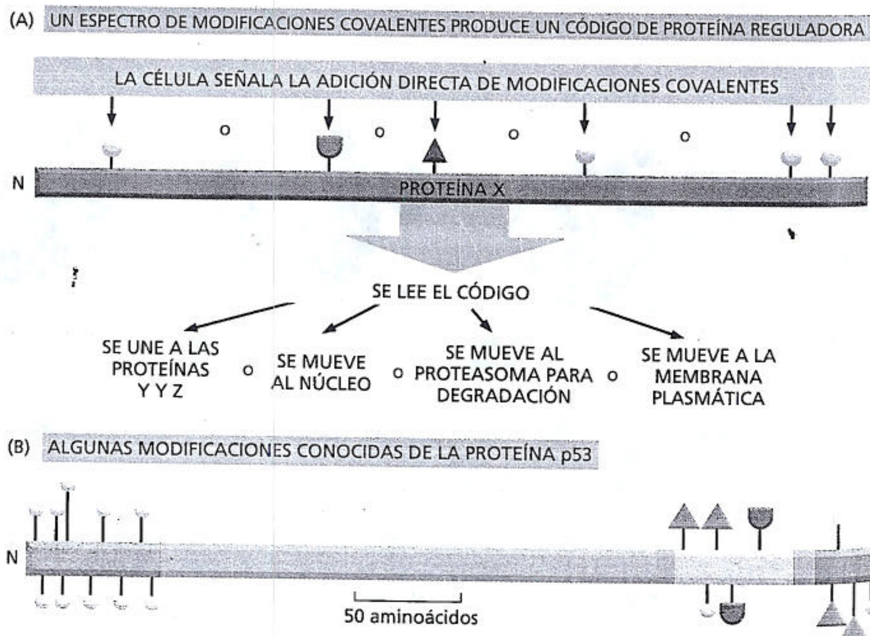


Figura 4-44. La modificación de una proteína en múltiples sitios produce un código regulador que controla el comportamiento de la proteína. (A) La particular combinación de modificaciones depende de diferentes señales del interior o del exterior de la célula (véase Cap. 16), que permite dirigir la actividad o la localización de una proteína. Por ejemplo, la fosforilación (símbolo *amarillo*) suele influir en la localización y la actividad de la proteína, mientras que la presencia de ubicuitina (símbolo *verde*) suele dirigir a la proteína para que sea destruida (véase Cap. 7). (B) Se muestran algunas de las modificaciones covalentes que controlan la actividad y la degradación de la proteína p53, una importante proteína génica reguladora que interviene en la respuesta de la célula al daño (véase Cap. 18). Obsérvese que no todas estas modificaciones –fosforilación, ubicuitinación y acetilación (símbolos *azules*)– estarán presentes al mismo tiempo. Los colores a lo largo del cuerpo de la proteína representan distintos dominios proteicos.

papel central en el control de la respuesta celular al daño del DNA, puede ser modificada en 20 sitios diferentes (Fig. 4-44A). Dada la enorme cantidad posible de combinaciones de estas 20 modificaciones, el comportamiento de la proteína puede ser modificado, en principio, de numerosas maneras.

El conjunto de modificaciones covalentes que contiene una proteína en un momento dado constituye un **código regulador de proteínas** combinatorio importante. La unión o la eliminación de estos grupos modificadores controla el comportamiento de una proteína al cambiar su actividad o estabilidad, las moléculas a las que se une, o su localización intracelular (véase Fig. 4-44). El código regulador permite que la célula utilice de manera óptima sus proteínas y que responda con rapidez a cambios de su condición o de su ambiente.

CÓMO SE ESTUDIAN LAS PROTEÍNAS

Conocer cómo funciona una proteína particular exige análisis estructurales y bioquímicos detallados, los cuales requieren grandes cantidades de proteína pura. Sin embargo, aislar un solo tipo de proteína de los miles de otras presentes en una célula es una tarea formidable. Durante muchos años, fue preciso purificar las proteínas directamente a partir de la fuente: los tejidos en los que abundaban más. Ese enfoque era incómodo e implicaba, por ejemplo, viajes a la mañana temprano a los mataderos. Más importante aún, la complejidad de los tejidos y los órganos intactos es una desventaja al intentar purificar moléculas particulares, porque en general se requiere una larga serie de pasos de cromatografía. Estos procedimientos no sólo demandan semanas, sino que aportan sólo unos pocos miligramos de proteína pura.

En la actualidad, las proteínas se aíslan con más frecuencia a partir de células que crecen en un laboratorio. A menudo, estas células incluso han sido "engañadas" mediante técnicas de ingeniería genética, que se describirán en el capítulo 10, para que fabriquen grandes cantidades de una proteína dada. Por lo general, estas células permiten obtener grandes cantidades de proteína pura en sólo unos pocos días.

En esta sección –y en las láminas 4-4/4-6 (pp. 164-167)– se reseña cómo se pueden hacer crecer células en cultivo y cómo se purifican proteínas a partir de éstas y de otras células. En la sección Biología experimental (pp. 158-160), se describe cómo se analizan estas proteínas para determinar su secuencia de aminoácidos y su estructura tridimensional. Por último, se analizarán los proyectos que se están realizando para investigar la estructura y la función de las proteínas a gran escala, con la esperanza de obtener un conocimiento más profundo de cómo cooperan grupos de proteínas para hacer posible la vida.

Las células pueden crecer en una placa de cultivo

Si el medio circundante es adecuado, la mayoría de las células vegetales y animales vivirán, proliferarán e, incluso, expresarán propiedades especializadas en una placa de cultivo de tejidos. En ocasiones, se dice que los experimentos realizados con el empleo de células cultivadas se hacen *in vitro* (literalmente, "en vidrio") para diferenciarlos de los que se llevan a cabo en organismos intactos, de los que se dice que se practican *in vivo* (literalmente, "en lo viviente"). Sin embargo, estos términos pueden ser confusos, porque a menudo los bioquímicos los utilizan en un sentido muy diferente. En el laboratorio de bioquímica, *in vitro* hace referencia a reacciones efectuadas en un tubo de ensayo en ausencia de células, mientras que *in vivo* hace referencia a cualquier reacción que tiene lugar dentro de una célula viva, incluso las que crecen en cultivo.

Si bien no es válido para todos los tipos de célula, la mayoría de las células que crecen en cultivo presentan propiedades diferenciadas apropiadas para su origen: los fibroblastos, las células precursoras que dan origen al tejido conectivo, continúan secretando colágeno; las células derivadas de músculo esquelético embrionario se fusionan y forman fibras musculares que se contraen de modo espontáneo en la placa de cultivo; las células nerviosas extienden axones que son eléctri-

INVESTIGACIÓN DE LA ESTRUCTURA PROTEICA

Como sin duda ya habrá concluido al leer este capítulo, la estructura impone la función. En el caso de las proteínas, la forma tridimensional de la molécula determina qué hace la proteína. De modo que para aprender más acerca de cómo trabaja una proteína, ayuda saber cómo es.

El problema es que la mayor parte de las proteínas son demasiado pequeñas para ser vistas en detalle, incluso con un microscopio electrónico potente. Para seguir el camino de una cadena de aminoácidos que se pliega en una molécula proteica, es preciso poder "ver" sus átomos individuales. Los científicos utilizan dos métodos principales para identificar la localización de los átomos de una proteína. El primero implica el empleo de rayos X. Al igual que la luz, los rayos X son una forma de radiación electromagnética, pero tienen una longitud de onda mucho más corta: 0,1 nanómetros (nm) en lugar de la longitud de onda de 400-700 nm de la luz visible. Esa pequeña longitud de onda –que es el diámetro aproximado de un átomo de hidrógeno– permite a los científicos investigar la estructura de objetos muy pequeños y detallados en el nivel atómico.

Un segundo método, denominado espectroscopia de resonancia magnética, aprovecha que los núcleos de muchos átomos son intrínsecamente magnéticos. Cuando son expuestos a un magneto más grande, estos núcleos actúan como pequeñas barras magnéticas y se alinean con el campo magnético. Si después son excitados mediante una ráfaga de ondas de radio, los núcleos se moverán alrededor de sus ejes magnéticos y, cuando se relajen y recuperen su posición, emitirán una señal que se puede usar para revelar sus posiciones relativas en una proteína.

Aplicando estas técnicas, los investigadores han armado trabajosamente miles de estructuras proteicas. Con la ayuda de programas gráficos computarizados, han sido capaces de ingresar en ellas y explorar los rincones donde se encuentra el ATP o examinar los bucles y las hélices que utilizan las proteínas para sujetar a un producto asociado o para enrollarse alrededor de un segmento de DNA. Si la proteína pertenece a un virus o a una célula cancerosa, la visualización de su estructura puede aportar indicios para diseñar fármacos que podrían frustrar una infección o eliminar un tumor.

Pero antes de que usted pueda bombardear una proteína con rayos X o cargarla en un magneto gigante, se deben aislar grandes cantidades de la proteína en forma pura (véanse láminas 4-4, 4-5 y 4-6 de las pp. 164-167). También debe conocer su secuencia de aminoácidos, de manera que se puedan interpretar los datos que reúna acerca de la disposición de sus átomos. Así, se comenzará la exposición sobre la resolución de la estructura de las proteínas con un breve repaso de los enfoques que se utilizan para determinar la secuencia de aminoácidos de una proteína.

Huella genética

Antes de secuenciar una proteína (es decir, determinar el orden de sus aminoácidos), ésta se suele fraccionar en partes más pequeñas mediante una proteasa selectiva. Por ejemplo, la enzima tripsina rompe las cadenas polipeptídicas en el lado carboxilo de una lisina o una arginina. Por lo tanto, si una proteína tiene nueve lisinas y siete argininas, la digestión con tripsina debería cortarla en 17 fragmentos peptídicos. En ocasiones, estos fragmentos peptídicos son secuenciados de manera parcial mediante métodos químicos, y después, se utilizan las secuencias parciales para buscar en una base de datos y hallar la proteína completa de la que provienen.

Otra manera más rápida de determinar las secuencias de aminoácidos –en especial, cuando se están separando e identificando al mismo tiempo grandes cantidades de proteínas– consiste en recurrir a un método denominado espectrometría de masa. Esta técnica determina la masa exacta de cada fragmento peptídico, información que le permitirá identificar la proteína a partir de la lista de todas las proteínas producidas por el organismo. El proceso funciona así. Los péptidos digeridos por tripsina se desecan sobre una placa metálica. Después, la muestra se bombardea con un láser, que calienta los péptidos y hace que adquieran carga eléctrica (que se ionicen) y sean expulsados de la placa en forma de gas. Acelerados por un poderoso campo eléctrico, los iones del péptido luego se dirigen hacia un detector, y el tiempo que les toma alcanzarlo está en relación con su masa y su carga (cuanto más grande es el péptido, más lentamente se mueve y mientras más cargado esté, más rápido se desplaza). El conjunto de masas exactas de los fragmentos proteicos generados por la fragmentación con tripsina sirve como una "huella genética" que permite la identificación de la proteína –y su gen correspondiente– a partir de las bases de datos de secuencias (Fig. 4-45).

Rayos X

Una vez que se conoce la secuencia de aminoácidos de una proteína y que se ha producido una cantidad suficiente de ella para trabajar, comienza el verdadero desafío. Para determinar la estructura de una proteína utilizando cristalografía de rayos X, se necesita, en primer lugar, lograr con paciencia que forme cristales: grandes disposiciones altamente ordenadas de la proteína pura en las que cada molécula tiene la misma conformación y está perfectamente alineada con sus vecinas. El crecimiento de cristales proteicos de alta calidad todavía tiene algo de arte y es, en gran medida, una cuestión de ensayo y error: seleccionar las condiciones solventes correctas, etc. Puede demandar años hallar las condiciones apropiadas, y algunas proteínas resisten totalmente la cristalización.

Si tiene suerte de obtener buenos cristales, está preparado para el análisis de rayos X. Cuando un haz angosto de rayos X es dirigido hacia un cristal de proteína, los átomos de las moléculas proteicas dispersan los rayos X que ingresan. Estas ondas dispersas se refuerzan o se anulan entre sí, lo que genera un patrón de difracción complejo que es recolectado por detectores electrónicos. La posición y la intensidad

de cada mancha del patrón de difracción contienen información acerca de la posición de los átomos en el cristal proteico (Fig. 4-46).

Como estos patrones son tan complejos –aun una pequeña proteína puede generar 25.000 manchas separadas– se utilizan ordenadores para interpretarlos y para transformarlos mediante cálculos matemáticos complejos en mapas de las posiciones espaciales relativas de los átomos. Combinando la información obtenida a partir de mapas de este tipo con la secuencia de aminoácidos de la proteína, usted puede generar finalmente un modelo atómico de la estructura de la proteína. Para determinar si ésta experimenta cambios conformacionales cuando se une a un ligando que refuerza su actividad, después podría tratar de cristalizar la proteína en presencia de su ligando. Con cristales de calidad suficiente, se pueden detectar incluso pequeños movimientos atómicos al comparar las estructuras obtenidas en presencia y en ausencia de ligandos estimuladores o inhibitorios.

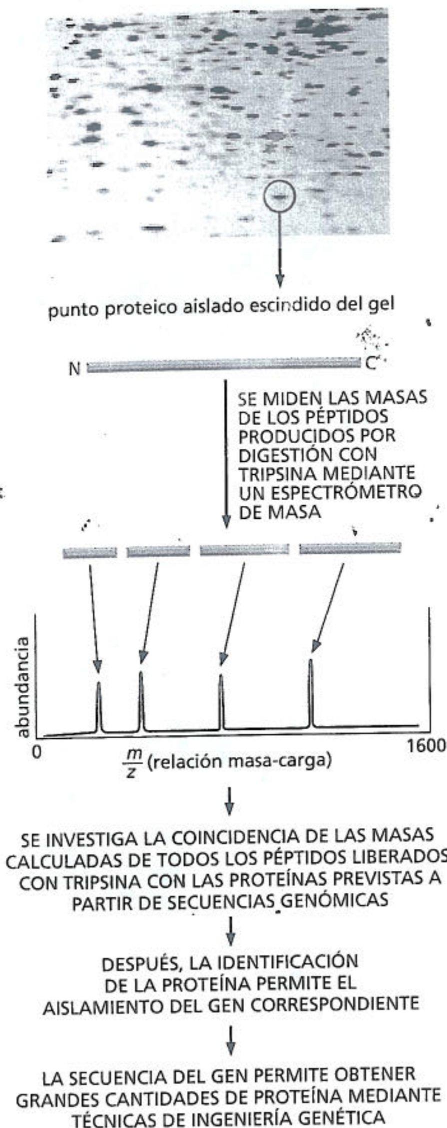


Figura 4-45. La espectrometría de masa se puede utilizar para identificar proteínas mediante la determinación de las masas precisas de los péptidos derivados de ellas. Según se indica, esto permite, a su vez, producir proteínas en las grandes cantidades necesarias para determinar su estructura tridimensional. En este ejemplo, la proteína de interés se extrae de un gel de poliacrilamida tras electroforesis bidimensional (véase lámina 4-6, p. 167) y, después, es digerida con tripsina. Los fragmentos peptídicos se cargan en el espectrómetro de masa y se miden sus masas exactas. Luego, se hacen búsquedas en las bases de datos de secuencias para encontrar la proteína cuyo perfil calculado mediante la digestión con tripsina coincida con estos valores. Este método también permite analizar mezclas de proteínas. (Microfotografía cortesía de Patrick O'Farrell.)

Magnetos

El problema de la cristalografía de rayos X es que usted necesita cristales. Y no todas las proteínas forman estos ensamblajes tan ordenados. Algunas podrían tener partes laxas que se mueven demasiado para disponerse definidamente en un ordenamiento cristalino. Otras podrían no cristalizar en ausencia de las membranas en las que suelen residir.

Hay otra manera de resolver la estructura de esta proteína, una que no requiere cristales proteicos. Si la proteína es pequeña –es decir, de 40.000 dalton o menos– se puede determinar su estructura mediante espectroscopia de resonancia magnética (RM). En esta técnica, se coloca una solución concentrada de proteína pura en un campo magnético intenso y, luego, se la bombardea con ondas de radio de diferentes frecuencias. Sus núcleos de hidrógeno, en particular, generarán una señal de RM que se puede utilizar para determinar las distancias entre los átomos de distintas partes de la proteína. Después, se emplea esta información para construir un modelo de la disposición espacial de estos átomos. También en este caso, un espectro de RM, combinado con el conocimiento de la secuencia de aminoácidos, le permite calcular la estructura tridimensional de la proteína (Fig. 4-47). Si la proteína es mayor de 50.000 dalton, puede intentar descomponerla en sus dominios funcionales y analizar cada dominio por RM.

Como determinar la conformación precisa de una proteína insume tanto tiempo y es tan costoso –y los conocimientos resultantes son tan valiosos– los científicos de rutina comunican las estructuras al remitir la información a una base de datos de acceso público. Gracias a estas bases de datos, cualquier interesado en visualizar la estructura de, por ejemplo, el ribosoma –una maquinaria celular compleja formada por varios RNA y más de 50 proteínas– puede hacerlo con facilidad. En el futuro, los avances en cristalografía de rayos X y en espectroscopia de RM permitirán análisis más rápidos de muchas más proteínas y maquinarias proteicas. Y una vez que se hayan determinado suficientes estructuras, se podrán generar algoritmos para predecir con exactitud la estructura sólo sobre la base de la secuencia de aminoácidos de una proteína. Después de todo, es la secuencia de aminoácidos sola la que determina cómo se pliega cada proteína en su estructura tridimensional.

patrón de difracción de rayos X obtenido del cristal de la proteína

difracción de los haces

haz de rayos X

tope del haz

cristal de la proteína

fuente de rayos X

(A)

(B)

(C)

(D)

Figura 4-46. La estructura de una proteína se puede determinar mediante cristalografía de rayos X. La ribulosa bifosfato carboxilasa es una enzima que desempeña un papel fundamental en la fijación del CO_2 durante la fotosíntesis. (A) aparato de difracción de rayos X; (B) fotografía del cristal; (C) patrón de difracción; (D) estructura tridimensional determinada a partir del patrón (las hélices α se muestran en *verde*, y las hojas β, en *rojo*). (B, cortesía de C. Branden; C, cortesía de J. Hajdu e I. Anderson; D, adaptado del original proporcionado por B. Furugren).

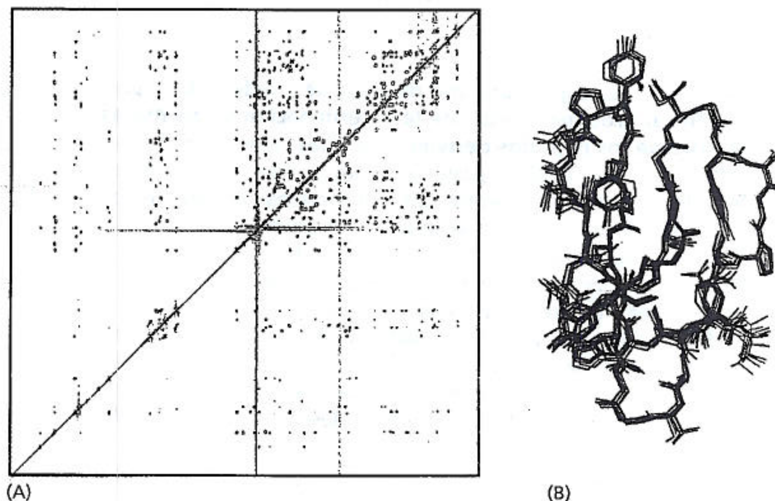
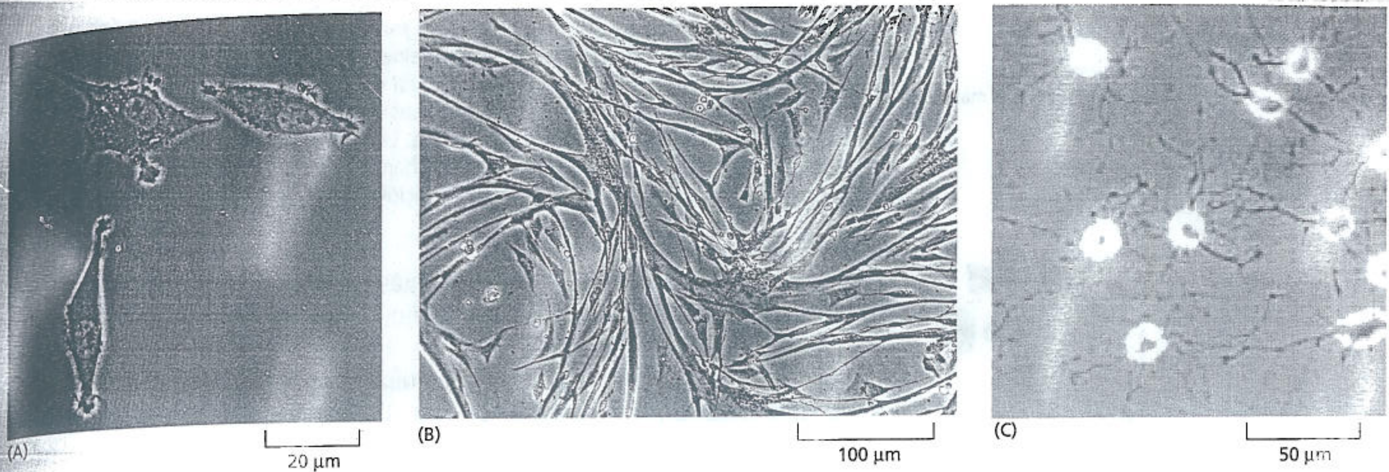
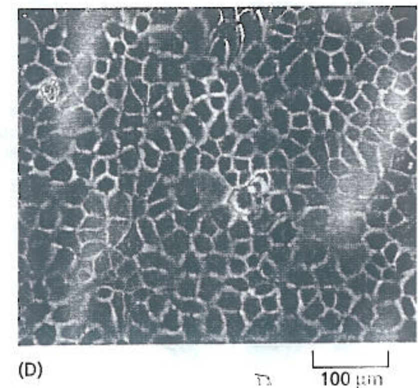


Figura 4-47. La espectroscopia de RM se puede utilizar para determinar la estructura de proteínas pequeñas o de dominios proteicos. (A) Espectro bidimensional de RM derivado del dominio C-terminal de la enzima celulasa. Las manchas representan interacciones entre átomos de H vecinos. (B) El grupo de estructuras superpuestas muestra que todas satisfacen igual de bien las restricciones de distancia. (Cortesía de P. Kraulis).





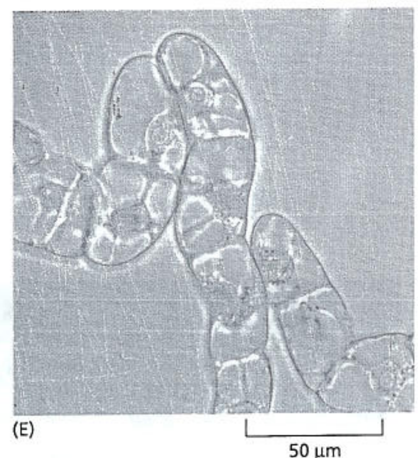


Figura 4-48. Las células en cultivo suelen mostrar propiedades que reflejan su origen. (A) Microfotografía de contraste de fase de fibroblastos en cultivo. (B) La microfotografía de mioblastos cultivados, las células precursoras que dan origen al músculo, muestra células que se fusionan y forman células musculares multinucleadas. (C) Células precursoras cultivadas que dan origen a oligodendrocitos, las células gliales que sostienen y nutren a las neuronas cerebrales. (D) Las células epiteliales cultivadas pueden formar láminas celulares. (E) Células de tabaco, de una línea celular inmortal, que crecen en cultivo líquido. (A, cortesía de Daniel Zicha; B, cortesía de Rosalind Zalin; C, de Tang et al., *J Cell Biol* 148:971-984, 2000, con autorización de The Rockefeller University Press; D, de K. B. Chua et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:11424-11429, 2007, con autorización de National Academy of Sciences; E, cortesía de Gethin Roberts).

camente excitables y hacen sinapsis con otras células nerviosas; y las células epiteliales forman láminas extensas con muchas propiedades de un epitelio intacto (Fig. 4-48). Como estos fenómenos se producen en cultivo, en un ambiente controlado, es posible estudiarlos de manera que a menudo no son factibles en tejidos intactos. Por ejemplo, las células cultivadas pueden ser expuestas a hormonas o a factores de crecimiento, y se pueden explorar con facilidad los efectos que estas moléculas ejercen sobre la forma o el comportamiento de las células, o sobre las proteínas que producen en respuesta.

Las células cultivadas también pueden aportar una fuente accesible de materias primas para los biólogos interesados en purificar y estudiar una proteína o una maquinaria proteica particular, como se explica a continuación.

Las técnicas de purificación permiten obtener preparados proteicos homogéneos a partir de homogeneizados celulares

Ya sea que se comience con un cultivo de fibroblastos, un fragmento de hígado o un tanque de células que han sido manipuladas genéticamente para producir la proteína de interés, el primer paso de cualquier procedimiento de purificación consiste en romper las células para liberar su contenido; el material resultante se denomina *homogeneizado celular*. Esta ruptura física es seguida de un procedimiento de fraccionamiento inicial para separar la clase de molécula de interés: p. ej., todas las proteínas solubles de la célula (lámina 4-4, pp. 164-165).

Una vez obtenido este conjunto de proteínas, el trabajo es aislar la proteína deseada. El enfoque estándar consiste en purificar la proteína mediante una serie de pasos de **cromatografía**, que separan los componentes individuales de una mezcla compleja en distintas porciones o fracciones. Después de cada paso de este tipo, se utiliza algún tipo de análisis –p. ej., una prueba de la actividad de la proteína– para determinar qué fracciones contienen la proteína de interés. Después, se somete a estas fracciones a otros pasos de cromatografía hasta obtener la pro-

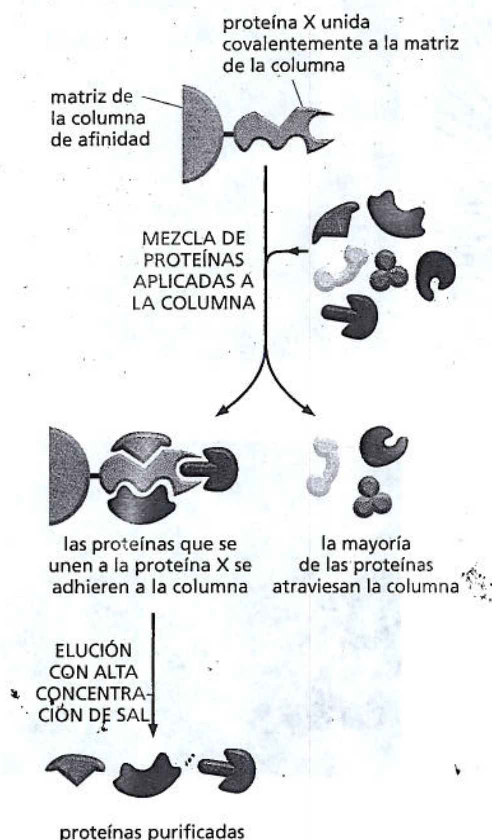


Figura 4-49. La cromatografía de afinidad se puede utilizar para aislar a los productos que se unen a la proteína de interés. La proteína purificada de interés, aquí la proteína X, se une covalentemente a la matriz de una columna de cromatografía. Se carga en columna un extracto que contiene una mezcla de proteínas. Las proteínas que se asocian con la proteína X dentro de la célula se unirán a ella en la columna. Las proteínas no unidas a la columna la atraviesan, y después, las proteínas unidas estrechamente a la proteína X se pueden liberar mediante la modificación del pH o de la composición iónica de la solución de lavado.

teína deseada en forma pura. Las formas más populares de cromatografía de proteínas separan los polipéptidos por tamaño, carga o capacidad de unirse a un determinado grupo químico (**lámina 4-5**, p. 166). Si hay antibióticos que reconocen una proteína particular, se los puede utilizar para ayudar a extraer esa proteína de una muestra (véase Lámina 4-3, pp. 144-145).

Se puede recurrir a un enfoque similar para aislar las proteínas que interactúan físicamente con la proteína estudiada. En este caso, la proteína purificada de interés se une a la matriz de la columna de cromatografía; las proteínas que se unen a esta proteína se acumularán en la columna y después, pueden ser eludidas modificando la composición de la solución de lavado (**Fig. 4-49**).

Las proteínas también se pueden separar por **electroforesis**. En esta técnica, se carga una mezcla de proteínas en un gel polimérico, y se la somete a un campo eléctrico; los polipéptidos migrarán a través del gel a diferentes velocidades según su tamaño y carga neta (**lámina 4-6**, p. 167). Si la muestra contiene demasiadas proteínas, o si las proteínas tienen una velocidad de migración muy similar, se las puede resolver aun más mediante electroforesis bidimensional en gel (véase Lámina 4-6). Estos enfoques electroforéticos generan una serie de bandas o manchas que pueden ser visualizadas por tinción, cada una de las cuales contiene una proteína diferente. La electroforesis y la cromatografía –desarrolladas ambas hace más de 50 años– han sido útiles para conocer el aspecto y el comportamiento de las proteínas (**cuadro 4-2**). Ambas técnicas todavía se utilizan con mucha frecuencia en los laboratorios.

Una vez que se ha obtenido una proteína en forma pura, se la puede usar en análisis bioquímicos para estudiar los detalles de su actividad y se la puede someter a técnicas que revelan su secuencia de aminoácidos y su estructura tridimensional precisa (véase Biología experimental, pp. 158-160).

CUADRO 4-2 HITOS HISTÓRICOS EN EL CONOCIMIENTO DE LAS PROTEÍNAS

1838	El nombre **"proteína"** (del griego proteios, "primario") fue sugerido por Berzelius para la sustancia compleja rica en nitrógeno hallada en las células de todos los animales y vegetales.
1819-1904	Se descubrieron la mayor parte de los 20 **aminoácidos** comunes hallados en las proteínas.
1864	Hoppe-Seyler cristalizó y denominó a la proteína **hemoglobina**.
1894	Fischer propuso una analogía **llave y cerradura** para las interacciones enzima-sustrato.
1897	Buchner y Buchner demostraron que los extractos sin células de levadura podían fermentar la sacarosa y formar dióxido de carbono y etanol, lo que sentó las bases de la **enzimología**.
1926	Sumner cristalizó ureasa en forma pura y demostró que las proteínas podían tener la **actividad catalítica** de enzimas; Svedberg desarrolló la primera **ultracentrifugadora analítica** y la utilizó para calcular el peso molecular de la hemoglobina.
1933	Tiselius introdujo la **electroforesis** para separar a las proteínas en solución.
1934	Bernal y Crowfoot presentaron los primeros patrones detallados de **difracción de rayos X** de una proteína, obtenido a partir de cristales de la enzima pepsina.
1942	Martin y Synge desarrollaron la **cromatografía**, una técnica que ahora se utiliza ampliamente para separar proteínas.
1951	Pauling y Corey propusieron la estructura de una conformación helicoidal de una cadena de aminoácidos –la **hélice α**– y la estructura de la **hoja β**, las cuales fueron halladas posteriormente en muchas proteínas.
1955	Sanger determinó, por primera vez en una proteína, la **secuencia de aminoácidos de la insulina**.
1956	Ingram produjo la primera **huella genética proteica** y demostró que la diferencia entre la hemoglobina de la anemia falciforme y la hemoglobina normal se debe al cambio en un solo aminoácido (Película 4.12).
1960	Kendrew describió la primera **estructura tridimensional** detallada de una proteína (la mioglobina del esperma de la ballena) con una resolución de 0,2 nm, y Perutz propuso una estructura de resolución más baja para la hemoglobina.
1963	Monod, Jacob y Changeux reconocieron que muchas enzimas se regulan por medio de **cambios alostéricos** en su conformación.

Se pueden producir grandes cantidades de casi cualquier proteína mediante técnicas de ingeniería genética

Los avances de las técnicas de ingeniería genética permiten ahora producir grandes cantidades de casi cualquier proteína deseada. Además de hacer mucho más fácil la vida de los bioquímicos interesados en purificar proteínas específicas, esta posibilidad de producir en serie enormes cantidades de proteínas ha dado origen a toda una industria de biotecnología (Fig. 4-50) En la actualidad, las compañías utilizan bacterias, levaduras o células de mamífero cultivadas para producir masivamente todas clases de proteínas e, incluso, fármacos que aumentan la fertilidad para estimular la producción de oocitos en las mujeres sometidas a fertilización in vitro. La preparación de estas proteínas requería antes la recolección y el procesamiento de grandes cantidades de tejido y otros productos biológicos como, en el caso de los fármacos para la fertilidad, orina de monjas posmenopáusicas.

Con las mismas clases de técnicas de ingeniería genética, los científicos también pueden diseñar proteínas que realizan tareas nuevas: metabolizar desechos tóxicos, sintetizar fármacos que salvan vidas u operar en condiciones que destruirían a la mayoría de los catalizadores biológicos. En el capítulo 10, se analizan en más detalle estos métodos.

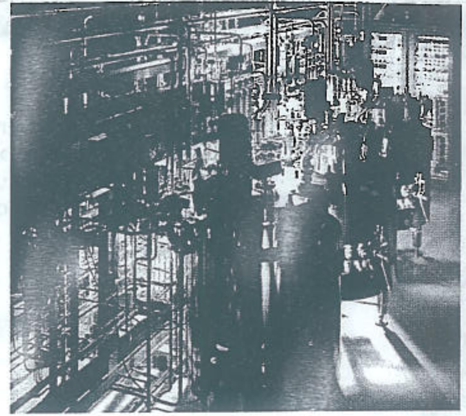


Figura 4.50. Las compañías de biotecnología producen cantidades masivas de proteínas útiles. Se muestra una fotografía de los fermentadores empleados para el crecimiento de las células requeridas para la producción de proteínas a tan gran escala. (Cortesía de Bioengineering AG, Suiza).

Los estudios automatizados de la estructura y la función de las proteínas están acelerando el ritmo de los descubrimientos

En los últimos 150 años, los bioquímicos han hecho enormes progresos en el conocimiento de la estructura y la función de las proteínas (véase cuadro 4-2, p. 162). Estos progresos son el fruto de décadas de investigaciones laboriosas de proteínas aisladas, realizadas por científicos que trabajaron incansablemente con proteínas solas o con familias de proteínas, una por una, a veces durante toda su carrera. Pero muchos de los adelantos futuros pueden provenir de la **proteómica**, los estudios a gran escala de las proteínas celulares en los que se analizan las actividades o las estructuras de cientos o incluso de miles de proteínas mediante técnicas automatizadas muy sensibles. Si los científicos pueden perfeccionar estos métodos, algún día será posible controlar todas las proteínas presentes en una célula, apreciar si están activadas (o desactivadas) y establecer de cuáles proteínas están acompañadas, todo en un único experimento. Los análisis en gran escala de las estructuras de las proteínas ya están asociados, en un solo experimento.

Ya se están realizando análisis a gran escala de estructuras proteicas. Técnicas que han sido miniaturizadas y automatizadas permiten que los investigadores clonen genes con rapidez, produzcan proteínas, hagan crecer cristales y acumulen datos de difracción de rayos X para cientos de proteínas al mismo tiempo. Gracias a la **cristalografía de rayos X** y la **espectroscopia de resonancia magnética (RM)** (véase Biología experimental, p. 160), ahora se conoce la forma tridimensional de más de 20.000 proteínas. Estas estructuras se archivan en grandes bases de datos, de acceso público (Película 4.13). Analizando las conformaciones de estas proteínas, los biólogos llegaron a la conclusión de que la vasta mayoría de los dominios proteicos se pliegan en una limitada cantidad de patrones, quizá tan solo 2.000. Hasta ahora, se han determinado las estructuras de alrededor de 800 de estos plegamientos proteicos. Al estudiar cómo se forman estos patrones, los científicos esperan desarrollar métodos computarizados que permitan tomar cualquier secuencia de aminoácidos y predecir tanto la estructura como la función de la proteína.

Aun con esta información, será un enorme desafío descifrar con exactitud cómo todas estas proteínas –alrededor de 400 en la bacteria más pequeña y 10.000 en una célula humana típica– trabajan juntas formando una célula viva. Esclarecer con precisión cómo colaboran las proteínas creando y manteniendo el orden en un universo que siempre tiende al desorden requerirá el desarrollo continuo de nuevas técnicas y un alto grado de ingenio humano. Pero cuanto más nos acerquemos a responder esta pregunta, más cerca estaremos de comprender la base fundamental de la vida.

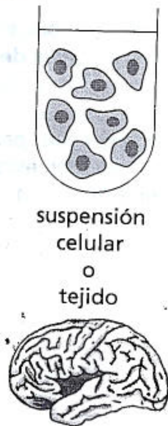
LÁMINA 4-4 Rotura celular y fraccionamiento inicial de los extractos celulares

ROTURA DE CÉLULAS Y TEJIDOS

El primer paso de la purificación de la mayoría de las proteínas consiste en romper los tejidos y las células de una manera controlada.

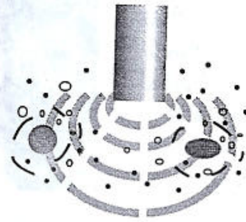
Procedimientos mecánicos suaves, denominados homogeneización, permiten romper las membranas plasmáticas de manera de liberar el contenido de la célula. Aquí se muestran cuatro procedimientos utilizados con frecuencia.

La sopa espesa (denominada homogeneizado o extracto) contiene moléculas grandes y pequeñas del citosol, como enzimas, ribosomas y metabolitos, así como todos los orgánulos delimitados por membranas.

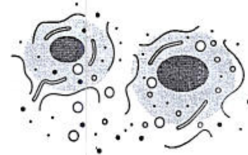




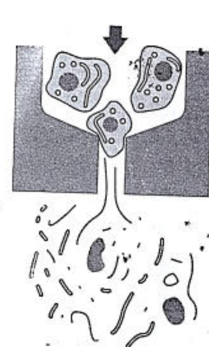
suspensión celular o tejido



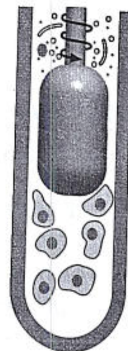
1 Rompa las células con sonido de alta frecuencia.



2 Utilice un detergente suave para crear agujeros en la membrana plasmática.

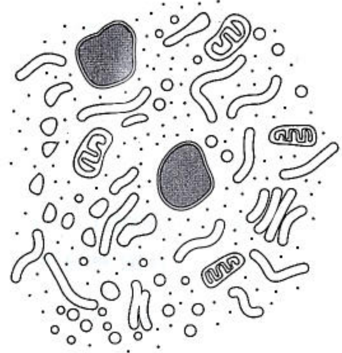


3 Fuerce a las células a través de un orificio pequeño aplicando alta presión.



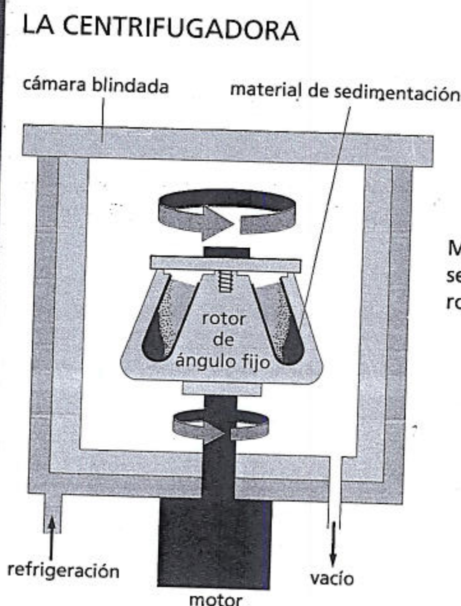
4 Las células se deslizan entre un émbolo rotatorio ajustado y las paredes gruesas de un tubo de vidrio.

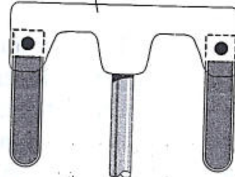




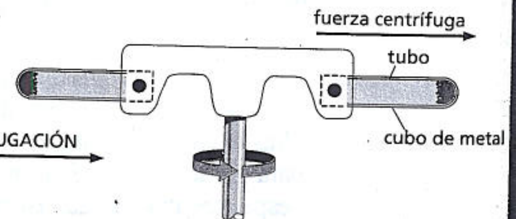
Cuando se la realiza de manera cuidadosa, la homogeneización deja intactos la mayoría de los orgánulos delimitados por membrana.

LA CENTRIFUGADORA





Muchos fraccionamientos de células se realizan en un segundo tipo de rotor, un rotor de brazo oscilante.



Los cubos de metal que sostienen los tubos pueden oscilar hacia fuera mientras gira el rotor.





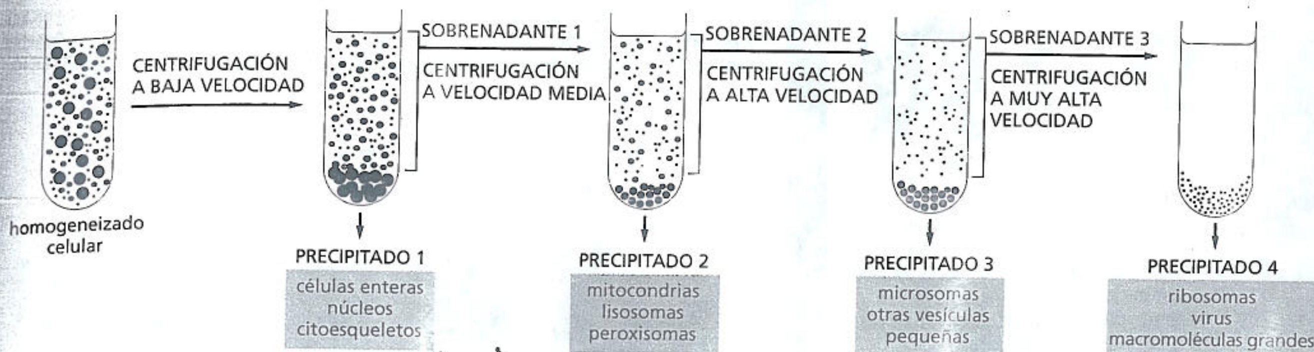
La centrifugación es el procedimiento más difundido para separar un homogeneizado en diferentes partes o fracciones. El homogeneizado se coloca en tubos de ensayo y se lo rota a alta velocidad en una centrifugadora o una ultracentrifugadora. Las ultracentrifugadoras actuales rotan a velocidades hasta de 100.000 revoluciones por minuto y generan enormes fuerzas, que superan hasta 600.000 veces la de gravedad.

Estas velocidades exigen refrigerar y evacuar las cámaras centrifugadoras, de manera que la fricción no caliente el homogeneizado. La centrifugadora está rodeada de un grueso blindaje, porque un rotor desequilibrado puede destrozarse con liberación explosiva de energía. Un rotor de ángulo fijo puede manejar volúmenes más grandes que un rotor de brazo oscilante, pero la microesfera se forma de manera menos uniforme.

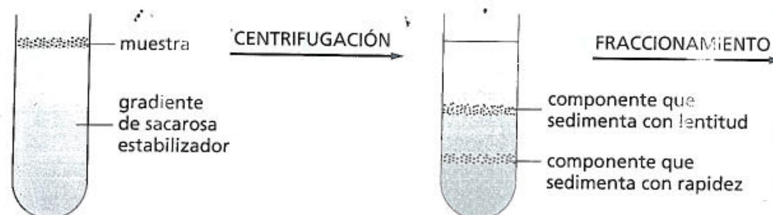
CENTRIFUGACIÓN DIFERENCIAL

Las centrifugaciones repetidas a velocidades cada vez más elevadas fraccionarán los homogenizados celulares en sus componentes.

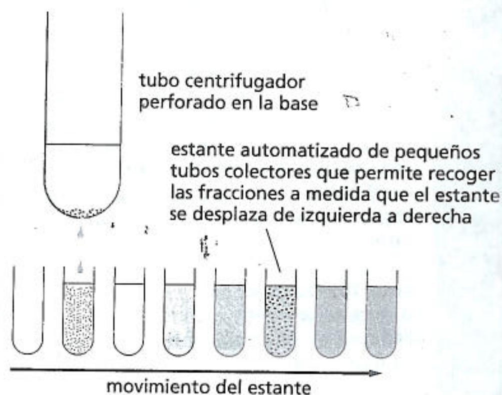
La centrifugación separa los componentes celulares sobre la base de su tamaño y su densidad. Los componentes de mayor tamaño y densidad experimentan la mayor fuerza centrífuga y son los que más rápido se mueven. Sedimentan formando un precipitado en la base del tubo, mientras que los componentes más pequeños y menos densos se mantienen en suspensión, en la parte denominada sobrenadante.



VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN



Sedimento de componentes subcelulares a diferentes velocidades de acuerdo con su tamaño después de ser extendidos de manera cuidadosa sobre una solución salina diluida y centrifugados a través de ésta. Para estabilizar los componentes de sedimentación respecto de la mezcla por convección en el tubo, la solución contiene un gradiente superficial continuo de sacarosa que aumenta de concentración hacia el fondo del tubo. Por lo general, es sacarosa al 5-20%. Cuando sedimentan a través de un gradiente de sacarosa tan diluido, los diferentes componentes celulares se separan en distintas bandas que pueden ser recolectadas individualmente.

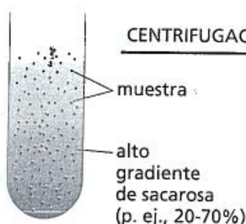


Después de un tiempo de centrifugación apropiado, se pueden recolectar las bandas; lo más simple es perforar el tubo centrifugador de plástico y recoger las gotas del fondo, como se muestra aquí.

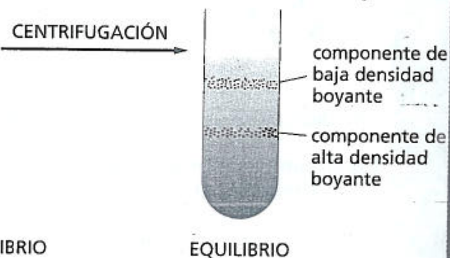
EQUILIBRIO DE SEDIMENTACIÓN

La ultracentrifugadora también se puede utilizar para separar componentes celulares sobre la base de su densidad boyante, independientemente de su tamaño o forma. Por lo general, se extiende la muestra sobre la parte superior de una gradiente de densidad que contiene una concentración muy alta de sacarosa o cloruro de cesio, o se la dispersa dentro de éste. Cada componente celular ascenderá o descenderá al ser centrifugado hasta alcanzar una posición en la que su densidad coincida con la del medio circundante y, después, no se moverá más. Finalmente, se producirá una serie de bandas distintas; las más cercanas al fondo contendrán los componentes de máxima densidad boyante. El método también se denomina centrifugación en gradiente de densidad.

Se distribuye la muestra por todo el gradiente de densidad de sacarosa.



En el equilibrio, los componentes han migrado a una región del gradiente que coincide con su propia densidad.

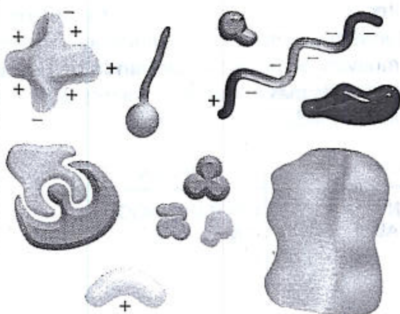


Aquí se muestra un gradiente de sacarosa, pero se pueden crear gradientes más densos con cloruro de cesio, que son particularmente útiles para separar los ácidos nucleicos (DNA y RNA).

Las bandas finales se pueden recoger de la base del tubo, como se muestra arriba.

LÁMINA 4-5 Separación de las proteínas por cromatografía

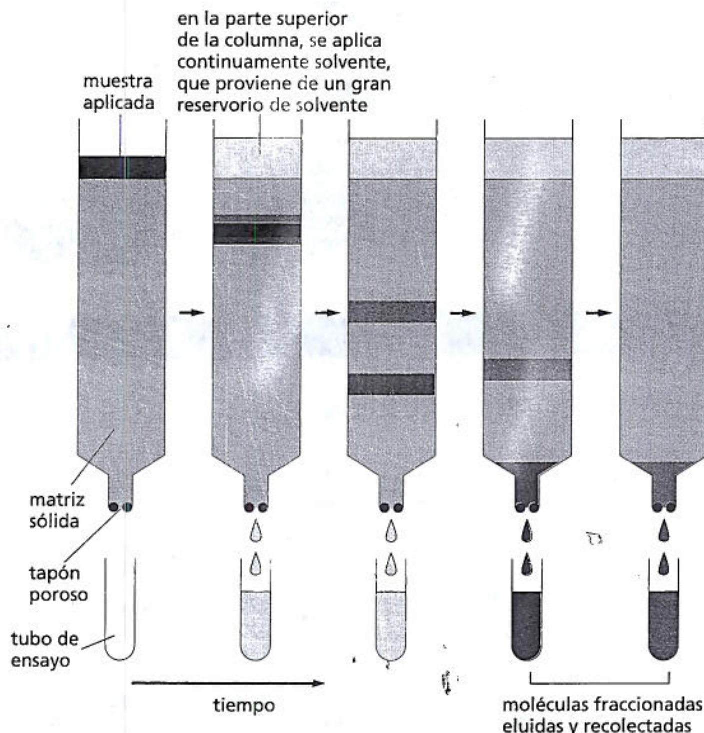
SEPARACIÓN DE PROTEÍNAS



Las proteínas son muy diversas. Difieren en tamaño, forma, carga, carácter hidrófobo y afinidad por otras moléculas. Todas estas propiedades se pueden aprovechar para separarlas entre sí, de manera de poder estudiarlas individualmente.

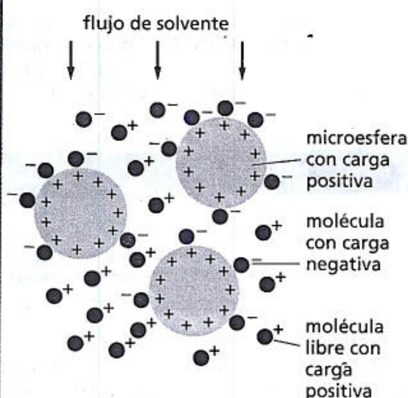
COLUMNA DE CROMATOGRAFÍA

Con frecuencia, las proteínas se fraccionan mediante cromatografía en columna. Se aplica una mezcla de proteínas en solución en la parte superior de una columna cilíndrica ocupada por una matriz sólida permeable inmersa en solvente. Después, se bombea un gran volumen de solvente a través de la columna. Como la interacción con la matriz retarda en diferente medida a distintas proteínas, éstas se pueden recolectar por separado a medida que fluyen por la parte inferior. Según la elección de la matriz, las proteínas se pueden separar de acuerdo con su carga, carácter hidrófobo, tamaño o capacidad para unirse a determinados grupos químicos (véase abajo).



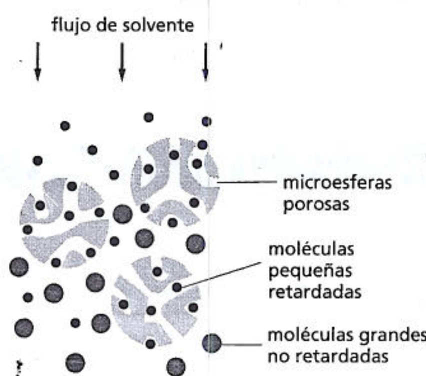
TRES CLASES DE CROMATOGRAFÍA

Aunque el material utilizado para formar la matriz de la cromatografía en columna varía, éste se suele colocar en la columna en forma de pequeñas microesferas. Una estrategia de purificación de proteínas típica podría emplear, a su vez, cada una de las tres clases de matriz descritas abajo, con una purificación final de proteínas de hasta 10.000 veces.
La pureza se puede evaluar con facilidad mediante electroforesis en gel (lámina 4-6).



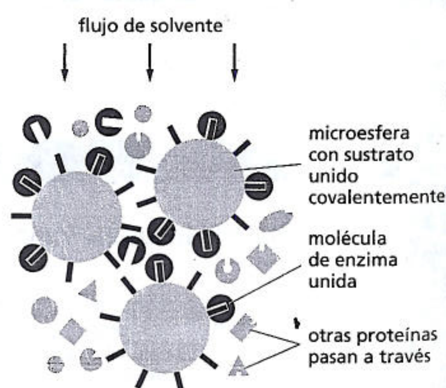
(A) CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Las columnas de intercambio iónico están llenas de pequeñas microesferas que tienen cargas positivas o negativas, por lo que retardan a las proteínas con carga opuesta. La asociación entre una proteína y la matriz depende del pH y la concentración iónica de la solución que atraviesa la columna. Éstos se pueden modificar de manera controlada para lograr una separación eficaz.



(B) CROMATROGRAFÍA DE FILTRACIÓN EN GEL

Las columnas de filtración en gel separan proteínas en función de su tamaño. La matriz consiste en diminutas microesferas porosas. Las moléculas de proteína que son lo bastante pequeñas para ingresar en los orificios de las microesferas se demoran y viajan con más lentitud a través de la columna. Las proteínas que no pueden ingresar en las microesferas son lavadas primero de la columna. Este tipo de columna también permite estimar el tamaño de las proteínas.

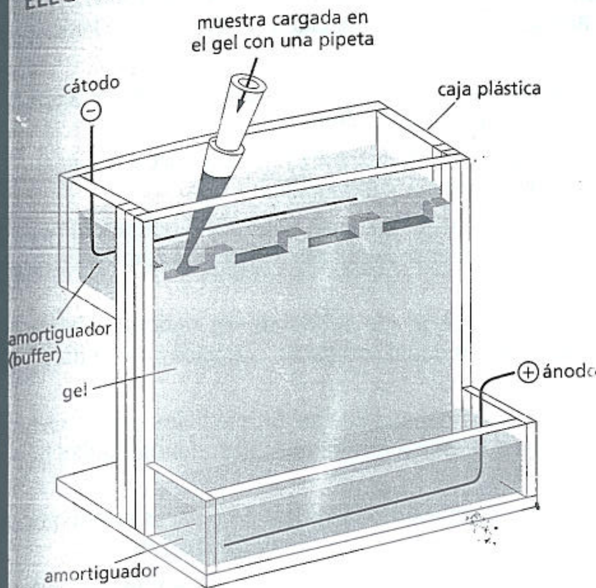


(C) CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD

Las columnas de afinidad contienen una matriz acoplada en forma covalente a una molécula que interactúa de modo específico con la proteína de interés (p. ej., un anticuerpo o un sustrato enzimático). Las proteínas que se unen específicamente a una columna de este tipo pueden ser liberadas después mediante una modificación del pH o mediante soluciones salinas concentradas, y emergen altamente purificadas (véase también Fig. 4-49).

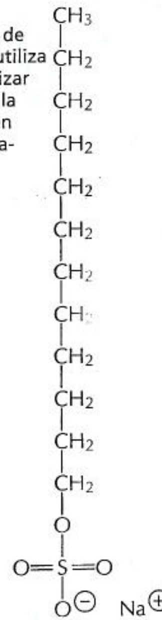
LÁMINA 4-6 Separación de proteínas por electroforesis

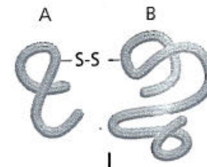
ELECTROFORESIS



Cuando se aplica un campo eléctrico a una solución que contiene moléculas de proteína, éstas migrarán en una dirección y a una velocidad que reflejan su tamaño y su carga neta. Esto es la base de la técnica denominada electroforesis.

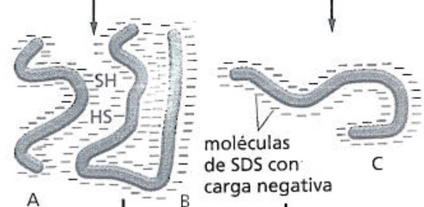
El detergente dodecil sulfato de sodio (SDS) se utiliza a fin de solubilizar proteínas para la electroforesis en gel de poliacrilamida SDS.



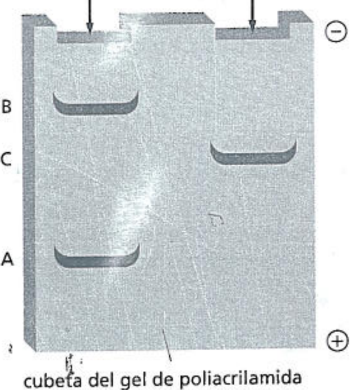




CALENTADO CON SDS Y MERCAPTOETANOL



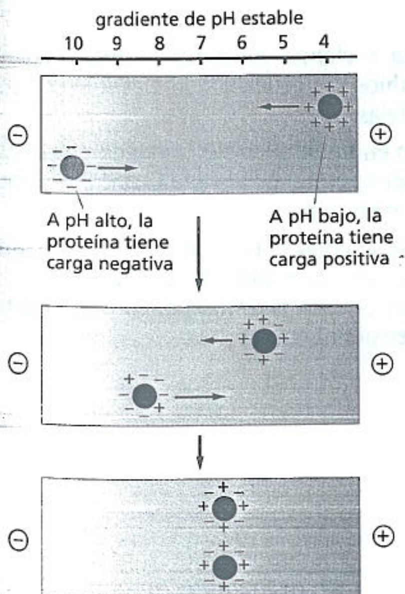
ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA



Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE) Las cadenas polipeptídicas individuales forman un complejo con moléculas con carga negativa del dodecil sulfato de sodio (SDS) y, por lo tanto, migran como un complejo SDS-proteína de carga negativa a través de una depresión del gel de poliacrilamida poroso. El aparato empleado para esta técnica de electroforesis se muestra en la parte superior (izquierda). Por lo general, se agrega un agente reductor (mercaptoetanol) para romper cualquier enlace –S–S– dentro de las proteínas o entre ellas. En estas condiciones, las proteínas migran a una velocidad que refleja su peso molecular.

FOCALIZACIÓN ISOELÉCTRICA

Para cada proteína, hay un pH característico, denominado punto isoeléctrico, en el que la proteína no tiene carga neta y, por lo tanto, no se moverá en un campo eléctrico. En la focalización isoeléctrica, se practica electroforesis de proteínas en un tubo angosto de gel de poliacrilamida en el que se establece un gradiente de pH mediante una mezcla de amortiguadores (*buffers*) especiales. Cada proteína se mueve hasta un punto del gradiente que corresponde a su punto isoeléctrico y permanece ahí.

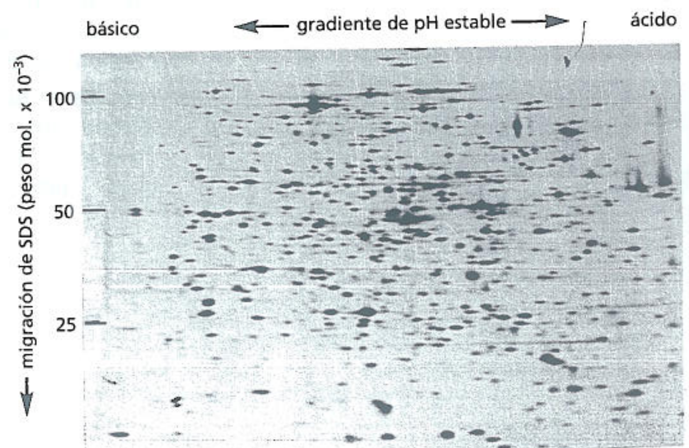


La proteína aquí mostrada tiene un pH isoeléctrico de 6,5.

ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL EN GEL DE POLIACRILAMIDA

Las mezclas complejas de proteínas no se pueden separar bien en geles unidimensionales, pero la electroforesis bidimensional en gel, que combina dos métodos de separación diferentes permiten resolver más de 1.000 proteínas en un mapa proteico bidimensional. En el primer paso, se separan las proteínas nativas en un gel angosto sobre la base de su carga intrínseca mediante focalización isoeléctrica (véase izquierda). En el segundo paso, se coloca este gel en la parte superior de una cubeta de gel, y se somete a las proteínas a SDS-PAGE (véase arriba) en una dirección perpendicular a la usada en el primer paso. Cada proteína migra y forma una mancha separada.

Se separan todas las proteínas de una célula bacteriana de *E. coli* en este gel 2-D, en el que cada mancha corresponde a una cadena polipeptídica diferente. Se las separa según su punto isoeléctrico de izquierda a derecha, y según su peso molecular, de arriba hacia abajo. (Cortesía de Patrick O'Farrell).



CONCEPTOS ESENCIALES

- Las células vivas contienen una gran diversidad de moléculas proteicas, cada una formada por una cadena lineal de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces covalentes.
- Cada tipo de proteínas tiene una secuencia única de aminoácidos que determina su forma tridimensional y su actividad biológica.
- La estructura plegada de una proteína se estabiliza por interacciones no covalentes entre distintas partes de la cadena polipeptídica.
- Los enlaces de hidrógeno entre regiones vecinas del esqueleto polipeptídico pueden dar origen a patrones de plegamiento regulares, conocidos como hélices α y hojas β.
- La estructura de muchas proteínas se puede subdividir en regiones globulares más pequeñas de estructura tridimensional compacta, conocidas como dominios proteicos.
- La función biológica de una proteína depende de las propiedades químicas detalladas en su superficie y de cómo se une a otras moléculas, denominadas ligandos.
- Cuando una proteína cataliza la formación o la rotura de enlaces covalentes de un ligando, la proteína se denomina enzima, y el ligando, sustrato.
- En el sitio activo de una enzima, las cadenas laterales de los aminoácidos de la proteína plegada están posicionadas con precisión, de manera que favorecen la formación de estados de transición de alta energía por los cuales los sustratos deben pasar para ser convertidos en productos.
- La estructura tridimensional de muchas proteínas evolucionó de modo que la unión de un pequeño ligando puede inducir un cambio significativo de la forma de la proteína.
- La mayor parte de las enzimas son proteínas alostéricas que pueden existir en dos conformaciones que difieren en la actividad catalítica, y la enzima puede ser activada o desactivada por ligandos que se unen a un sitio regulador diferente para estabilizar la conformación activa o inactiva.
- Las actividades de la mayor parte de las enzimas dentro de la célula están estrictamente reguladas. Una de las formas más comunes de regulación es la inhibición por retroalimentación, en la que una enzima al comienzo de una vía metabólica es inhibida por su unión a uno de los productos finales de esta vía.
- Muchos miles de proteínas de una célula eucarionte típica son reguladas por ciclos de fosforilación y desfosforilación, o por la unión e hidrólisis de GTP mediante una proteína de unión a GTP.
- La hidrólisis de ATP a ADP mediante proteínas motoras produce movimientos dirigidos en la célula.
- Se forman maquinarias proteicas de alta eficiencia mediante el ensamblaje de proteínas alostéricas en las que los cambios conformacionales están coordinados y realizan funciones celulares complejas.
- Un código regulador de proteínas basado en la modificación covalente de múltiples cadenas laterales de aminoácidos permite que cada célula controle la localización y el ensamblaje de sus complejos proteicos.
- A partir de homogeneizados celulares, se pueden obtener proteínas individuales en forma pura mediante una serie de pasos cromatográficos. La purificación permite revelar las propiedades detalladas de una proteína por técnicas bioquímicas y determinar su estructura tridimensional exacta.

PALABRAS CLAVE

alostérico
anticuerpo
antígeno
cadena lateral
código regulador de proteínas
conformación
cristalografía de rayos X
cromatografía
disposición en espiral
dominio proteico
electroforesis
enlace disulfuro
enzima
espectroscopia de resonancia magnética (RM)
esqueleto polipeptídico
estado de transición
estructura secundaria
familia de proteínas
fosforilación proteica
hélice α
hélice
hoja β
inhibición por retroalimentación
ligando
maquinaria proteica
polipéptido, cadena polipeptídica
proteína
proteína de unión a GTP
proteína fibrosa
proteína globular
proteína motora
proteincinasa
proteinfosfatasa
proteómica
secuencia de aminoácidos
sitio activo
sitio de unión
subunidad

PREGUNTAS

PREGUNTA 4-10

¿Cuáles de las afirmaciones siguientes son correctas? Fundamente sus respuestas correctas.

A. El sitio activo de una enzima ocupa por lo general sólo una fracción pequeña de su superficie.

B. La catálisis por algunas enzimas involucra la formación de un enlace covalente entre la cadena lateral de un aminoácido y la molécula de sustrato.

C. Una hoja β puede contener hasta cinco cadenas, pero no más.

D. La especificidad de una molécula de anticuerpo está contenida exclusivamente en los bucles de la superficie del dominio plegado de la cadena liviana.

E. Las disposiciones lineales posibles de aminoácidos son tan vastas que las proteínas nuevas casi nunca evolucionan por modificación de las antiguas.

F. Las enzimas alostéricas tienen dos o más sitios de unión.

G. Los enlaces no covalentes son demasiado débiles para influir en la estructura tridimensional de las macromoléculas.

H. En la cromatografía de afinidad, se separan las moléculas de acuerdo con sus cargas intrínsecas.

I. Al centrifugar un homogeneizado celular, los orgánulos más pequeños experimentan menos fricción y, por lo tanto, sedimentan con mayor rapidez que los más grandes.

PREGUNTA 4-11

¿Cuál es la característica común de las hélices α y de las hojas β que las convierte en componentes universales de las proteínas?

PREGUNTA 4-12

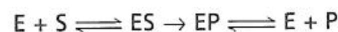
La estructura de la proteína está determinada únicamente por su secuencia de aminoácidos. ¿Una proteína manipulada genéticamente, con inversión del orden invertido de todos los aminoácidos, debería tener la misma estructura que la proteína original?

PREGUNTA 4-13

Considere la siguiente secuencia proteica como una hélice α: Leu-Lys-Arg-Ile-Val-Asp-Ile-Leu-Ser-Arg-Leu-Phe-Lys-Val. ¿Cuántos giros hace esta hélice? ¿Encuentra algo destacable acerca de la disposición de los aminoácidos de esta secuencia cuando se pliega en una hélice α? (Consejo: consulte las propiedades de los aminoácidos en Fig. 4-3).

PREGUNTA 4-14

Las reacciones enzimáticas simples frecuentemente se ajustan a la ecuación:



$$E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow EP \rightleftharpoons E + P$$

donde E, S y P son enzima, sustrato y producto, respectivamente.

A. ¿Qué representa ES en esta ecuación?

B. ¿Por qué el primer paso se muestra con una flecha bidireccional y el segundo, con una flecha unidireccional?

C. ¿Por qué E aparece en ambos extremos de la ecuación?

D. Es frecuente que las concentraciones altas de P inhiban a la enzima. Sugiera por qué podría ocurrir esto.

E. El compuesto X se asemeja a S y se une al sitio activo de la enzima, pero no puede experimentar la reacción catalizada por ésta. ¿Cuáles son los efectos que esperaría que ejerciera el agregado de X a la reacción? Compare los efectos de X y de la acumulación de P.

PREGUNTA 4-15

¿Cuáles de los siguientes aminoácidos esperaría hallar con más frecuencia cerca del centro de una proteína globular plegada? ¿Cuáles esperaría hallar más a menudo expuestos al exterior? Explique sus respuestas. Ser, Ser-P (un residuo Ser que está fosforilado), Leu, Lys, Gln, His, Phe, Val, Ile, Met, Cys-S-S-Cys (dos residuos de Cys unidos por enlaces disulfuro) y Glu. ¿Dónde debería hallar al aminoácido más N-terminal y al aminoácido más C-terminal?

PREGUNTA 4-16

Suponga que quiere producir y estudiar fragmentos de una proteína. ¿Esperaría que cualquier fragmento de la cadena polipeptídica se plegara del mismo modo que la secuencia correspondiente de la proteína intacta? Considere la proteína mostrada en la figura 4-16. ¿Cuáles son los fragmentos que usted supone que tienen la mayor probabilidad de plegarse correctamente?

PREGUNTA 4-17

Una enzima aislada a partir de una bacteria mutante que crece a 20°C funciona en un tubo de ensayo a 20°C pero no a 37°C (37°C es la temperatura del tubo digestivo, donde esta bacteria vive normalmente). Además, una vez que la enzima ha sido expuesta a altas temperaturas, no funciona a temperaturas bajas. La misma enzima aislada a partir de la bacteria normal funciona a ambas temperaturas. ¿Puede sugerir qué ha sucedido en el nivel molecular de la enzima mutante cuando aumenta la temperatura?

PREGUNTA 4-18

Una proteína motora se desplaza a lo largo de los f
tos en la célula. ¿Por qué los elementos que se mue
en la ilustración no son suficientes para proporcion
direccionalidad al movimiento (Fig. P4-18)? En rela
la figura 4-42, modifique la ilustración mostrada aq
incorporar otros elementos requeridos para crear u
unidireccional, y justifique cada modificación que le
la ilustración.

PREGUNTA 4-19

En la cromatografía de filtración en gel se separan
moléculas de acuerdo con su tamaño (véase Lámina
p. 166). Las moléculas más pequeñas difunden más
en solución que las de mayor tamaño, aunque migr
despacio que las más grandes a través de una colum
filtración en gel. Explique esta paradoja. ¿Qué suce
con velocidades de flujo muy rápidas?

PREGUNTA 4-20

Tanto la hélice α como la disposición en espiral que
forma a partir de ella son estructuras helicoidales, p
¿tienen el mismo sentido de giro (remitirse a la Fig.

PREGUNTA 4-20

¿Cómo es posible que un cambio en un solo aminoá
una proteína de 1.000 aminoácidos destruya su func
incluso cuando este aminoácido se encuentra lejos d
sitio de unión?

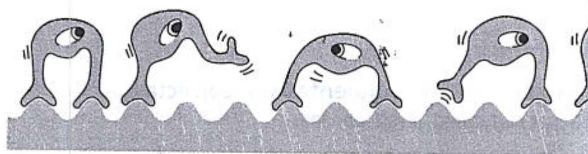


Figura P4-18



CAPÍTULO **CINCO** 5

DNA y cromosomas

LA ESTRUCTURA Y LA FUNCIÓN DEL DNA

LA ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS EUCARIÓTICOS

LA REGULACIÓN DE LA ESTRUCTURA CROMOSÓMICA

La vida depende de la capacidad de las células para almacenar, recuperar y traducir las instrucciones genéticas necesarias para generar y mantener un organismo vivo. Esta información hereditaria se pasa de una célula a sus hijas durante la división celular y, en los organismos multicelulares, de generación en generación a través de las células germinales. Las instrucciones se almacenan dentro de toda célula viva en sus *genes*, los elementos portadores de información que determinan las características de una especie en conjunto y de los individuos dentro de ella.

En los comienzos del siglo XX, cuando surgió la genética como ciencia, los científicos estaban intrigados con la condición química de los genes. La información contenida en los genes se copia y se transmite de una célula a las células hijas millones de veces durante la vida de un organismo multicelular y sobrevive al proceso esencialmente sin cambios. ¿Qué tipo de molécula sería capaz de una replicación tan precisa y casi ilimitada y además dirigir el desarrollo de un organismo y la vida diaria de una célula? ¿Qué tipo de instrucciones contiene la información genética? ¿Cómo están organizadas físicamente estas instrucciones de modo que la enorme cantidad de información necesaria para el desarrollo y el mantenimiento de hasta el organismo más simple pueda estar contenida dentro del minúsculo espacio de una célula?

Las respuestas a algunas de estas preguntas comenzaron a aparecer en la década de 1940, cuando a partir de estudios en hongos simples se descubrió que la información genética consiste primariamente en instrucciones para elaborar proteínas. Las proteínas son las macromoléculas que realizan la mayoría de las funciones de las células: actúan como unidades materiales para las estructuras celulares, forman las enzimas que catalizan las reacciones químicas de la célula, regulan la expresión de los genes y permiten que las células se muevan y se comuniquen entre sí. Desde esta perspectiva, resulta difícil imaginar qué otro tipo de instrucciones habría contenido la información genética.

Otro avance decisivo que tuvo lugar en la década de 1940 fue el descubrimiento de que el ácido desoxirribonucleico (DNA) era el portador probable de esta infor-

mación genética. Pero el mecanismo por el cual se copia la información hereditaria para su transmisión de una célula a otra y cómo las instrucciones en el DNA especifican las proteínas se mantuvo en completo misterio hasta 1953, cuando James Watson y Francis Crick determinaron la estructura del DNA. La estructura reveló de inmediato cómo se copiaría o duplicaría el DNA y proveyó las primeras pistas acerca de cómo una molécula de DNA codificaría las instrucciones para la elaboración de las proteínas. En la actualidad, el hecho de que el DNA es el material genético fundamental para el pensamiento biológico hace difícil apreciar qué enorme brecha intelectual llenó este descubrimiento.

En este capítulo comenzaremos con la descripción de la estructura del DNA. Veremos cómo, a pesar de su simplicidad química, la estructura y las propiedades químicas lo convierten en una materia prima ideal para la formación de genes. Los genes de todas las células en la Tierra están compuestos por DNA y los conocimientos sobre la relación entre el DNA y los genes provienen de experimentos en una amplia gama de organismos. Luego consideraremos cómo los genes y otros segmentos de DNA importantes están organizados en las largas moléculas de DNA que se encuentran en los cromosomas de las células. Por último, comentaremos cómo las células eucarióticas pliegan estas largas moléculas de DNA formando cromosomas compactos que están contenidos dentro del núcleo. Esta condensación tiene que realizarse de un modo ordenado para que los cromosomas puedan duplicarse y distribuirse en forma correcta entre las dos células hijas en cada división celular. También, debe permitir el acceso del DNA cromosómico a las enzimas que lo reparan cuando se daña y a las proteínas especializadas que dirigen la expresión de sus genes.

Este es el primero de cinco capítulos que trata sobre los mecanismos genéticos básicos: las formas en que la célula duplica, repara, expresa y, a veces, mejora la información genética transportada en su DNA. La totalidad de esta información en cada célula recibe el nombre de *genoma*. En el capítulo 6 comentaremos los mecanismos por los cuales la célula duplica y repara su DNA con precisión; y también, cómo las secuencias de DNA pueden reorganizarse mediante el proceso de recombinación génica. La expresión génica –el proceso por el cual la información codificada en el DNA es interpretada por la célula para guiar la síntesis de proteínas– es el tema principal del capítulo 7. En el capítulo 8 describiremos cómo la célula controla la expresión génica de modo que cada uno de los muchos miles de proteínas codificadas en su DNA se elabore en el momento y en el sitio adecuado en la vida de la célula. En el capítulo 9 comentaremos sobre cómo los genes y los genomas actuales evolucionaron a partir de ancestros remotos. Y en el capítulo 10 se presenta una relación de las técnicas experimentales utilizadas para estudiar el DNA y su papel en los procesos celulares fundamentales.

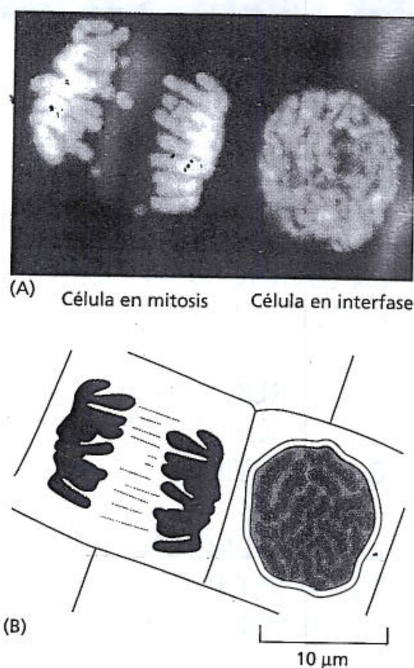


Figura 5-1. Los cromosomas se tornan visibles conforme las células se preparan para la división. (A) Dos células vegetales contiguas fotografiadas con el microscopio óptico. El DNA tiene una fluorescencia brillante por la acción de un colorante (DAPI) que se une a él. El DNA se encuentra en los cromosomas, los cuales se tornan visibles como estructuras definidas en la microscopia óptica sólo cuando se condensan en preparación para la división celular, como se ve a la *izquierda*. La célula de la *derecha*, que no se está dividiendo, contiene los mismos cromosomas; en esta fase del ciclo vital de la célula no pueden distinguirse como cromosomas individuales en la microscopia óptica porque el DNA está en una conformación mucho más extendida.
(B) Diagrama esquemático de las siluetas de las dos células junto con sus cromosomas.
(A, gentileza de Peter Shaw).

LA ESTRUCTURA Y LA FUNCIÓN DEL DNA

Mucho antes de que conocieran la estructura del DNA, los biólogos habían descubierto que los rasgos hereditarios y los genes que los determinan estaban asociados con los cromosomas. Los cromosomas (denominados así a causa de sus propiedades de tinción; del gr., *chroma*, color y *soma*, cuerpo) fueron descubiertos en el siglo XIX en la forma de estructuras filamentosas en el núcleo de la célula eucariótica, que se tornan visibles conforme la célula comienza a dividirse (Fig. 5-1). Cuando fue posible realizar análisis bioquímicos, los investigadores descubrieron que los cromosomas contenían tanto DNA como proteínas; pero, no se sabía cuál de estos componentes codificaba la información genética del organismo.

Hoy sabemos que el DNA transporta la información hereditaria de la célula y que los componentes proteicos de los cromosomas principalmente compactan y controlan las moléculas de DNA de una longitud enorme. Pero en la década de 1940 los biólogos tenían dificultad en aceptar el DNA como el material genético por la aparente simplicidad de su química (véase Biología experimental, pp. 174-176). Simplemente, se consideraba al DNA como un polímero largo compuesto por sólo cuatro tipos de subunidades que desde el punto de vista químico son muy semejantes entre sí.

Luego, a principios de la década de 1950, el DNA se examinó por medio del análisis de difracción de rayos X, una técnica para determinar la estructura atómica tridimensional de una molécula (comentada en el cap. 4, pp. 158-160). Los resultados iniciales indicaban que el DNA estaba compuesto por dos cadenas enrolladas en una hélice. El descubrimiento de que el DNA era bicatenario fue de una importancia crucial. Proveyó una de las pistas principales que, en 1953, condujeron a un modelo correcto para la estructura del DNA.

Ni bien se propuso el modelo de Watson-Crick de la estructura del DNA, se volvió obvio el potencial del DNA para la duplicación y la codificación de la información. En esta sección examinaremos la estructura de la molécula de DNA y explicaremos en términos generales cómo es capaz de almacenar la información hereditaria.

Una molécula de DNA consiste en dos cadenas de nucleótidos complementarias

Una molécula de **ácido desoxirribonucleico** (**DNA**) consiste en dos cadenas largas de polinucleótidos. Cada una de estas *cadenas de DNA* (también llamadas *hebras de DNA*) está compuesta por cuatro tipos de subunidades (nucleótidos) y ambas cadenas se mantienen unidas por la acción de enlaces de hidrógeno entre las bases de los nucleótidos (véanse Fig. 5-2 y Lámina 2-7, pp. 76-77, para una descripción de los enlaces de hidrógeno).

Como vimos en el capítulo 2 (Lámina 2-6, pp. 74-75), los nucleótidos están compuestos por una pentosa, carbohidrato simple de cinco carbonos, a la cual se une uno o más grupos fosfatos y una base nitrogenada. Para los nucleótidos del DNA la pentosa es desoxirribosa unida a un solo grupo fosfato (de ahí el nombre de

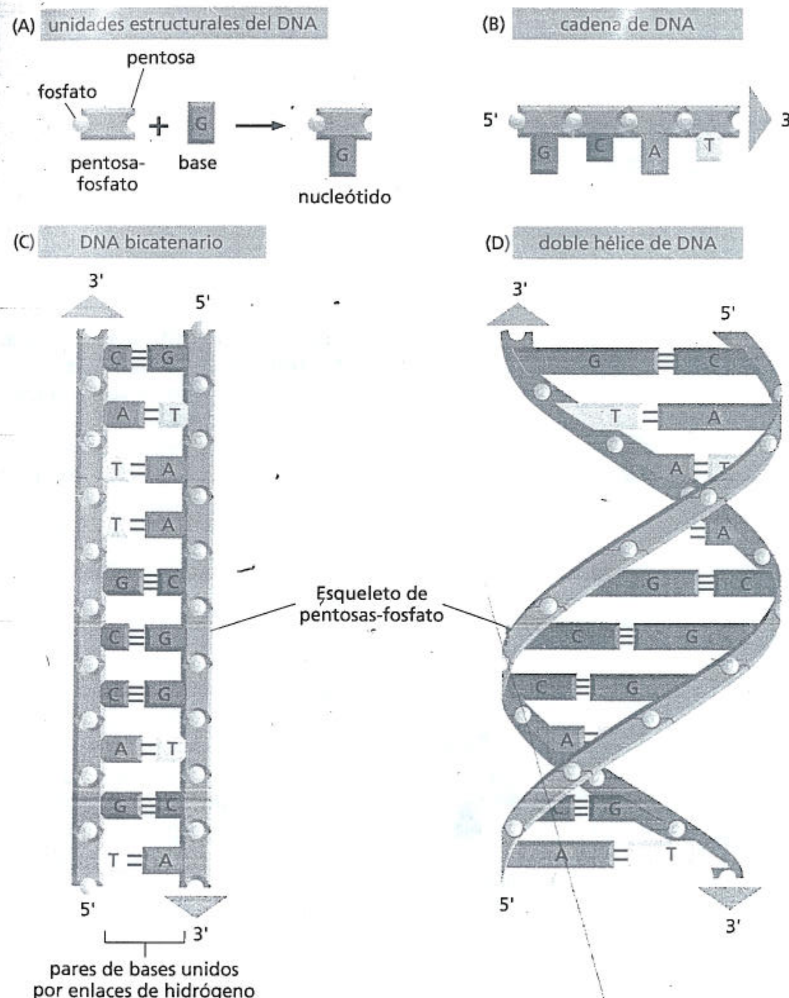


Figura 5-2. El DNA está compuesto por cuatro unidades estructurales, los nucleótidos. (A) Cada nucleótido está compuesto por una pentosa-fosfato unida en forma covalente a una base. (B) Los nucleótidos están unidos covalentemente entre sí formando cadenas de polinucleótidos, con un esqueleto de pentosa-fosfato desde el cual se extienden las bases (A, C, G y T). (C) Una molécula de DNA se compone de dos cadenas de polinucleótidos (cadenas de DNA) unidas entre sí por enlaces de hidrógeno entre las bases apareadas. Las flechas en el DNA indican las polaridades de las dos cadenas, que corren antiparalelas entre sí en la molécula de DNA. (D) Aunque en (C) el DNA se muestra desplegado, en realidad está enrollado en una doble hélice, como se ilustra aquí.

LOS GENES ESTÁN CONSTITUIDOS POR DNA

Ya en la década de 1920 los científicos, en general, estaban de acuerdo en que los genes residían en los cromosomas y sabían que los cromosomas estaban compuestos tanto por DNA como por proteínas. Pero como el DNA es tan simple desde el punto de vista químico, naturalmente los científicos supusieron que los genes tenían que estar constituidos por proteínas, porque son mucho más diversas en cuanto a su química. Aun cuando los indicios experimentales sugerían lo contrario, esta suposición resultó difícil de desalentar.

Mensajes de los muertos

El caso del DNA comenzó a tomar forma a finales de la década de 1920, cuando Fred Griffith, un oficial médico británico realizó un descubrimiento asombroso. Estaba estudiando el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), una bacteria causante de neumonía. Como aún no se habían descubierto los antibióticos, la infección con este microorganismo solía ser mortal. Cuando se cultivan en el laboratorio, los neumococos

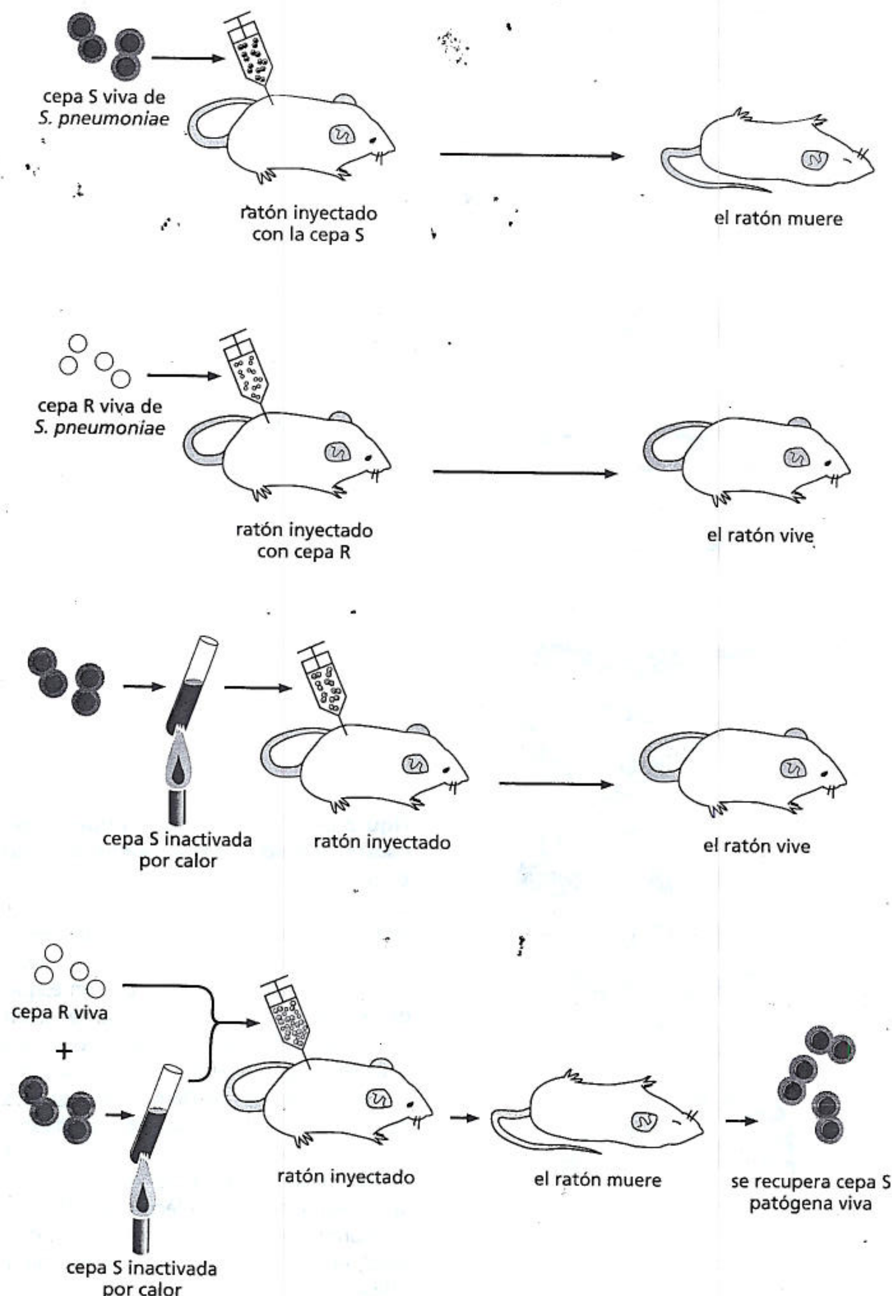


Figura 5-3. Griffith demostró que las bacterias muertas por calor pueden transformar células vivas. La bacteria *Streptococcus pneumoniae* existe en dos formas que difieren entre sí en su aspecto microscópico y en su capacidad para causar enfermedad. Las células de la cepa patógena, que son letales cuando se inyectan en ratones, están rodeadas por una cápsula de polisacáridos viscosa y brillante. Cuando se cultiva en una placa de nutrientes en el laboratorio, esta bacteria patógena forma colonias que tienen aspecto abovedado y liso; de ahí que se designe forma S (del inglés *smooth*, que significa liso). La cepa inocua del neumococo, en cambio, carece de esta cubierta protectora; produce colonias de aspecto plano y rugoso y por eso se designa forma R (del inglés *rough*, rugoso). Como se ilustra, Griffith comprobó que una sustancia presente en la cepa S patógena podía cambiar o transformar de modo permanente la cepa R no letal en la cepa S mortífera.

adoptan dos formas: una forma *patógena* que causa una infección letal cuando se inyecta en animales y una forma inocua que es fácilmente vencida por el sistema inmunitario del animal y no produce enfermedad.

En sus investigaciones, Griffith inyectó diferentes preparaciones de estas bacterias en ratones. Demostró que los neumococos patógenos que se habían inactivado por medio del calentamiento ya no tenían la capacidad de causar infección. La sorpresa surgió cuando Griffith inyectó bacterias patógenas muertas por calor y bacterias inocuas vivas en el mismo ratón. Esta combinación resultó letal: no sólo murió de neumonía el animal, sino que Griffith descubrió que su sangre estaba repleta de bacterias vivas de la forma patógena (Fig. 5-3). Los neumococos muertos por calor de alguna manera habían cambiado las bacterias inocuas a la forma mortal. Es más, Griffith comprobó que el cambio era permanente: podía hacer proliferar estas bacterias "transformadas" en un cultivo y mantenían su patogenicidad. ¿Pero qué era este material misterioso que convertía las bacterias inocuas en asesinas? ¿Y cómo se transmitía este cambio a la progenie de las bacterias?

Haciendo pompas

El hallazgo extraordinario de Griffith sentó las bases para los experimentos que proveerían los primeros indicios confiables de que los genes estaban compuestos de DNA. El bacteriólogo estadounidense Oswald Avery, continuó el trabajo de Griffith y descubrió que el neumococo inocuo podía transformarse en una cepa patógena en un medio de cultivo por la exposición a un extracto preparado a partir de la cepa patógena. Sin embargo, le tomaría otros 15 años a Avery y sus colegas Colin MacLeod y Maclyn McCarty purificar con buen éxito el "principio transformador" a partir de este extracto soluble demostrar que el ingrediente activo era el DNA.

Debido a que el principio transformador causaba un cambio hereditario en las bacterias que lo recibían, el DNA tenía que ser la sustancia misma de la que están hechos los genes.

La demora de 15 años, en parte, fue un reflejo del clima académico y la suposición, muy difundida, de que era probable que el material genético estuviese formado por proteínas. A causa de las ramificaciones potenciales de su trabajo, los investigadores querían estar absolutamente seguros de que el principio transformador era el DNA antes de anunciar sus hallazgos. Como Avery observó en una carta a su hermano, también bacteriólogo, "es muy divertido hacer pompas de jabón, pero es más sensato pincharlas uno mismo antes de que lo intente hacer otro".

Así que los investigadores sometieron el principio transformador a una batería de pruebas químicas (Fig. 5-4) y comprobaron que exhibía todas las propiedades químicas características del DNA; además, demostraron que las enzimas que destruyen proteínas y RNA no afectaban su capacidad para transformar bacterias, mientras que las enzimas que destruyen el DNA lo inactivaban. Y como Griffith antes que ellos, los investigadores comprobaron que su preparación purificada cambiaba las bacterias de modo permanente: la especie inocua captaba el DNA de la especie patógena y este cambio se transmitía con fidelidad a las generaciones bacterianas subsiguientes.

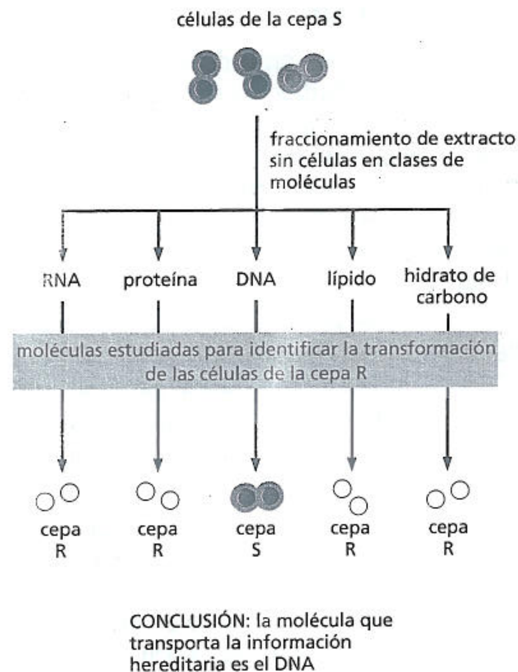


Figura 5-4. Avery, MacLeod y McCarty demostraron que el DNA es el material genético. Estos investigadores prepararon un extracto de la cepa S patógena y demostraron que el "principio transformador" que cambiaba en forma permanente los neumococos de la cepa R inocua en los de la cepa S patógena era el DNA. Este fue el primer indicio de que el DNA podía servir como material genético.

Este estudio histórico ofreció pruebas rigurosas de que el DNA purificado puede actuar como material genético. Sin embargo, el artículo científico resultante, publicado en 1944, llamativamente suscitó poca atención. A pesar del cuidado meticuloso con el que se realizaron estos experimentos, los genetistas no se convencieron enseguida de que el DNA era el material hereditario. Muchos sostenían que la transformación podría haber sido causada por trazas de proteína contaminante en las preparaciones. O bien, que el extracto podría contener un mutágeno que alteraba el material genético de las bacterias inocuas, convirtiendo los gérmenes en la forma patógena, en lugar de contener el material genético mismo.

Cócteles de virus

El debate no concluyó en forma definitiva hasta 1952, cuando Alfred Hershey y Martha Chase encendieron su licuadora de laboratorio y demostraron, de una vez por todas, que los genes están constituidos por DNA. Los investigadores estaban estudiando T2, un virus que infecta y por último destruye la bacteria *E. coli*. Estos virus que matan bacterias se comportan como pequeñas jeringas moleculares: inyectan su material genético en la célula hospedadora, mientras que las cabezas víricas vacías permanecen fuera de la bacteria infectada (Fig. 5-5A). Una vez dentro de la célula, los genes del virus dirigen la formación de nuevas partículas víricas. En menos de una hora las células infectadas estallan liberando miles de virus nuevos hacia el medio. Éstos luego infectan las bacterias vecinas y el proceso vuelve a comenzar.

Lo bueno de los virus T2 es que contienen sólo dos clases de moléculas: DNA y proteína, de modo que el material genético tenía que ser una u otra. ¿Pero cuál? El experimento fue bastante simple. Como el DNA vírico entra en la célula bacteriana mientras que el resto de la partícula vírica se mantiene fuera, los investigadores decidieron marcar radiactivamente la proteína en un lote de virus y el DNA en otro. Luego, todo lo que tuvieron que hacer fue seguir la radiactividad para ver si el DNA vírico o la proteína vírica terminaban dentro de la bacteria. Para lograr esto, Hershey y Chase incubaron sus virus marcados radiactivamente con *E. coli*; después de esperar unos minutos para que ocurriese la infección vertieron la mezcla en una licuadora y apretaron el botón. Las cuchillas giratorias de la licuadora arrancaron las cabezas víricas vacías de la superficie de las células bacterianas. Después, los investigadores centrifugaron la muestra para separar las bacterias infectadas, más pesadas (que formaban un precipitado con forma de perdigón en el fondo del tubo de centrífuga), de las cubiertas víricas vacías que permanecían en suspensión (Fig. 5-5B).

Como probablemente ustedes advirtieron, Hershey y Chase comprobaron que el DNA radiactivo entraba en las células bacterianas, mientras que las proteínas radiactivas permanecían con las cabezas víricas vacías. También hallaron que el DNA radiactivo se incorporaba en la nueva generación de partículas víricas.

Este experimento demostró en forma concluyente que el DNA vírico entra en las células bacterianas hospedadoras, mientras que la proteína vírica no lo hace. En consecuencia, el material genético en este virus tenía que estar compuesto por DNA. Junto con los estudios realizados por Avery, MacLeod y McCarty, estos indicios resuelven el caso del DNA como agente de la herencia.

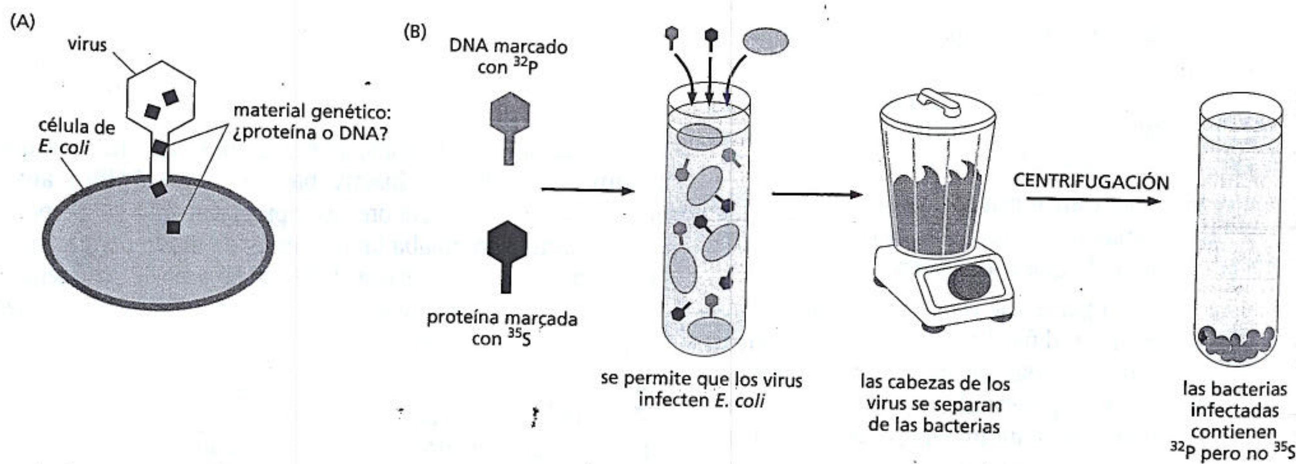
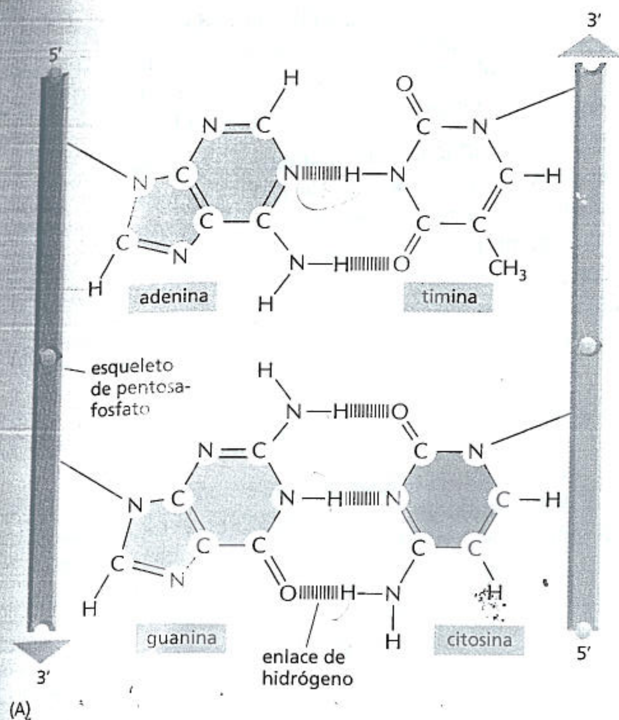


Figura 5-5. Hershey y Chase demostraron en forma definitiva que los genes estaban compuestos por DNA. (A) Los investigadores trabajaron con virus T2, los cuales están compuestos en su totalidad por DNA y proteínas. Cada virus actúa como una jeringa molecular que inyecta su material genético en una bacteria; la cápsula vírica vacía permanece adherida al exterior de la célula. (B) Para determinar si el material genético del virus era proteína o DNA, los investigadores marcaron radiactivamente el DNA de un lote de virus con ^{32}P y las proteínas en un segundo lote de virus con ^{35}S. Dado que el DNA carece de azufre y las proteínas carecen de fósforo, estos isótopos radiactivos proveyeron una forma conveniente para que los investigadores distinguiesen entre estos dos tipos de moléculas. Luego se permitió que estos virus marcados infectaran *E. coli* y la mezcla se sometió a pulsos agitadores breves en una licuadora Waring separar las bacterias infectadas de las cabezas víricas vacías. Cuando los investigadores midieron la radiactividad encontraron que la mayor parte del DNA marcado con ^{32}P había entrado en las células bacterianas, mientras que en su gran mayoría las proteínas marcadas con ^{35}S permanecían en solución con las partículas víricas vacías.



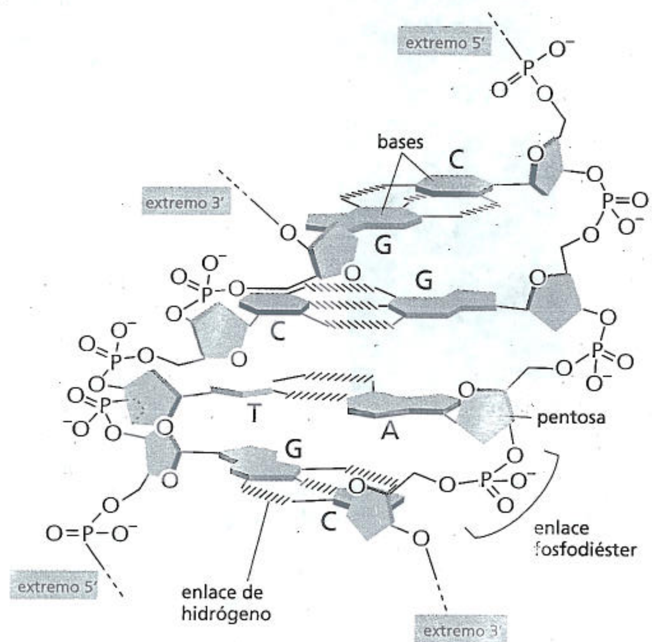


Figura 5-6. Las dos cadenas de la doble hélice de DNA están unidas por enlaces de hidrógeno entre pares de bases complementarias. (A) Las formas y la estructura química de las bases permite que sólo se formen enlaces de hidrógeno eficaces entre A y T y entre G y C, donde los átomos capaces de formar enlaces de hidrógeno (véase Lámina 2-2, pp. 66-67) pueden acercarse lo suficiente sin perturbar la doble hélice. Entre A y T se forman dos enlaces de hidrógeno, mientras que entre G y C se forman tres. Las bases pueden aparearse de este modo sólo si las dos cadenas de polinucleótidos que las contienen son antiparalelas, es decir, que están orientadas con las polaridades opuestas. (B) Un segmento corto de la doble hélice en vista lateral. Se muestran cuatro pares de bases. Los nucleótidos están unidos entre sí en forma covalente por enlaces fosfodiéster entre el grupo hidroxilo (–OH) 3′ de una pentosa y el fosfato ($–PO_4$) 5′ de la siguiente. Esta unión le imparte a cada cadena de polinucleótidos una polaridad química; o sea, que sus dos extremos son diferentes desde el punto de vista químico. El extremo 3′ porta un grupo –OH libre adherido a la posición 3′ en el anillo de la pentosa; el extremo 5′ porta un grupo fosfato libre adherido a la posición 5′ del anillo de la pentosa.

ácido desoxirribonucleico); la base puede ser *adenina* (*A*), *citosina* (*C*), *guanina* (*G*) o *timina* (*T*). Los nucleótidos están unidos entre sí de modo covalente formando una cadena a través de las pentosas y los fosfatos que establecen un "esqueleto" de pentosa-fosfato-pentosa-fosfato alternantes (véase Fig. 5-2B). Dado que es sólo la base la que difiere en cada uno de los tipos de subunidades, cada cadena de polinucleótidos del DNA puede considerarse como un collar formado por cuatro tipos de perlas (las cuatro bases A, C, G y T). Estos mismos símbolos (A, C, G y T), por lo general, también se utilizan para referirse a los cuatro tipos diferentes de nucleótidos—o sea, las bases con su pentosa y su grupo fosfato asociados.

La forma en que están unidas entre sí las subunidades (nucleótidos) concede a una cadena de DNA una polaridad química. Si imaginamos que cada nucleótido tiene una prominencia (el fosfato) y una oquedad (véase Fig. 5-2A), cada cadena, formada por prominencias insertadas en oquedades de nucleótidos vecinos, tendrá todas sus subunidades alineadas en la misma orientación. Además, los dos extremos de la cadena pueden distinguirse con facilidad porque uno tendrá una oquedad (el hidroxilo 3′) y el otro, una prominencia (el fosfato 5′). Esta polaridad en una cadena de DNA se indica denominando *extremo 3′* a uno de los extremos y *extremo 5′* al otro. Esta convención se fundamenta en los detalles del enlace químico entre las subunidades nucleotídicas.

Las dos cadenas de polinucleótidos en la **doble hélice** del DNA se mantienen unidas por enlaces de hidrógeno entre las bases de las cadenas diferentes. Por lo tanto, todas las bases están en el interior de la hélice, con los esqueletos de pentosa-fosfato en el exterior (véase Fig. 5-2D). Sin embargo, las bases no se aparean al azar: A siempre se aparea con T y G siempre con C (Fig. 5-6). En cada caso, una base más voluminosa compuesta por dos anillos como una purina (véase Lámina 2-6, pp. 74-75) se aparea con una base de un solo anillo, una pirimidina. Cada par de purina-pirimidina se denomina **par de bases** y este *apareamiento de bases complementarias* permite que los pares de bases se compacten en la distribución más favorable desde el punto de vista energético en el interior de la doble hélice. En esta distribución, cada par de bases es de un ancho semejante de modo que mantienen los esqueletos de pentosa-fosfato separados con la misma distancia a lo largo de la molécula de DNA. Los miembros de cada par de bases pueden encajar dentro de la doble hélice porque las dos cadenas de la hélice corren antiparalelas una con respecto a la otra, es decir que están orientadas

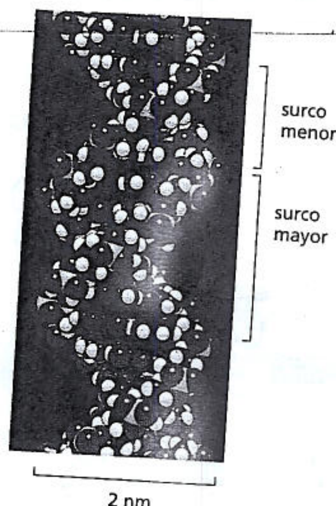


Figura 5-7. Un modelo tridimensional muestra la conformación de la doble hélice del DNA. Las dos cadenas del DNA se enrollan una alrededor de la otra formando una hélice dextrógira con 10 bases por vuelta. Aquí se muestra una vuelta y media de la doble hélice del DNA. El enrollamiento de las dos cadenas entre sí crea dos surcos en la doble hélice. El surco más ancho se denomina surco mayor y el más estrecho, surco menor. Los colores de los átomos son: N, *azul*; O, *rojo*; P, *amarillo* y H, *blanco*.

con polaridades opuestas (véanse Figs. 5-2C y D). Las cadenas antiparalelas de pentosa-fosfato luego se enroscan una alrededor de la otra formando una doble hélice con 10 pares de bases por vuelta helicoidal (Fig. 5-7). Este enrollamiento también contribuye a la conformación energéticamente favorable de la doble hélice del DNA.

Una consecuencia de los requerimientos del apareamiento de las bases de la doble hélice es que cada cadena de una molécula de DNA contiene una secuencia de nucleótidos que es exactamente **complementaria** de la secuencia de nucleótidos de su cadena pareja (una A siempre se aparea con una T en la cadena opuesta y una C siempre se aparea con una G). Esta complementariedad es de importancia fundamental para el copiado y la reparación del DNA, como comentaremos en el capítulo 6. En la Película 5.1 puede verse una versión animada de la estructura del DNA.

PREGUNTA 5-1

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Explique sus respuestas.
A. Una cadena de DNA tiene una polaridad porque un extremo de la cadena posee más cargas que el otro.
B. Los pares de bases G-C son más estables que los pares de bases A-T.

La estructura del DNA provee un mecanismo para la herencia

Los genes transportan información biológica que debe copiarse y transmitirse en forma precisa cuando la célula se divide y genera dos células hijas. Esta situación plantea dos problemas biológicos centrales: ¿cómo puede transportarse en forma química la información que especifica un organismo y cómo se la copia con precisión? El descubrimiento de la estructura de la doble hélice del DNA fue un hecho histórico en la biología del siglo XX porque de inmediato sugirió respuestas a estas dos preguntas y, en consecuencia, resolvió el problema de la herencia en el nivel molecular. En este capítulo delineamos la respuesta a la primera pregunta; en el capítulo siguiente tratamos en detalle la respuesta a la segunda.

El DNA codifica la información en el orden o la secuencia de los nucleótidos a lo largo de cada cadena. Cada base (A, C, T o G) puede considerarse una letra en un alfabeto de cuatro letras que se utiliza para componer mensajes biológicos en la estructura química del DNA (Fig. 5-8). Los organismos difieren entre sí porque sus respectivas moléculas de DNA tienen *secuencias de nucleótidos* diferentes y, en consecuencia, transportan mensajes biológicos diferentes. ¿Pero cómo se usa el alfabeto de nucleótidos para componer mensajes y qué significan estos mensajes?

Un poco antes de haberse determinado la estructura del DNA ya se había establecido que los genes contienen las instrucciones para la producción de las proteínas. Por consiguiente, de algún modo, los mensajes en el DNA debían codificar las proteínas. Si consideramos la condición química de las proteínas, el problema es más fácil de definir. Como se comentó en el capítulo 4, la función de una proteína está determinada por su estructura tridimensional y; a su vez, su estructura está determinada por la secuencia de los aminoácidos en su cadena polipeptídica. Por lo tanto, la secuencia lineal de los nucleótidos en un gen debe representar, de algún modo, la secuencia lineal de los aminoácidos en una proteína.

La concordancia exacta entre el alfabeto de nucleótidos (de 4 letras) del DNA y el alfabeto de aminoácidos (de 20 letras) de las proteínas –el *código genético*– no es obvia a partir de la estructura de la molécula de DNA y necesitó más de una década después del descubrimiento de la doble hélice para determinarse. En el capítulo 7 describiremos este código en detalle con la explicación del proceso conocido como *expresión génica*, mediante el cual una célula *transcribe* la secuencia de nucleótidos de un gen en la secuencia de nucleótidos de una molécula de RNA y luego *traduce* esta información en la secuencia de aminoácidos de una proteína (Fig. 5-9).

El conjunto completo de la información en el DNA de un organismo recibe el nombre de **genoma** (el término también se utiliza para hacer alusión al DNA que transporta esta información). La cantidad total de esta información es sorprendente: escrita con el alfabeto de cuatro letras (nucleótidos), la secuencia de nucleótidos de un gen humano muy pequeño ocupa un cuarto de una página de texto, mientras que la secuencia completa del genoma humano llenaría más de 1.000 libros del tamaño de éste. Aquí se plantea un problema que afecta la arquitectura de todos los cromosomas eucarióticos: ¿cómo puede compactarse eficazmente toda esta información en cada núcleo celular? En el resto de este capítulo nos ocuparemos de la respuesta a esta pregunta.

LA ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS EUCARIÓTICOS

Se necesitan grandes cantidades de DNA para codificar toda la información que se necesita para generar una bacteria unicelular y se requiere mucho más DNA para codificar las instrucciones para el desarrollo de organismos multicelulares como nosotros. Cada célula humana contiene unos 2 m de DNA; sin embargo, el núcleo celular mide sólo 5-8 μm de diámetro. Comprimir todo este material en un espacio tan pequeño equivale a tratar de plegar 40 km de un hilo muy delgado dentro de una pelota de tenis.

En las células eucarióticas, las moléculas muy largas de DNA bicatenario se compactan en estructuras llamadas **cromosomas**, los cuales no sólo caben perfectamente dentro del núcleo sino que también pueden repartirse con facilidad entre las dos células hijas durante cada división celular. La compleja tarea de compactar el DNA es realizada por proteínas especializadas que se unen al DNA y lo pliegan, generando así una serie de espirales y asas que proveen niveles de organización cada vez más elevados e impiden que el DNA se convierta en una maraña incontrolable. Lo sorprendente es que el DNA se compacta de un modo que le permite permanecer accesible a todas las enzimas y demás proteínas que lo duplican, lo reparan y dirigen la expresión de sus genes.

Las bacterias transportan sus genes en una sola molécula de DNA circular. Esta molécula también se asocia con proteínas que condensan el DNA, pero estas proteínas difieren de las que compactan el DNA eucariótico. Aunque este DNA procariótico se denomina "cromosoma" bacteriano, no tiene la misma estructura que los cromosomas eucarióticos y se sabe menos acerca de cómo se compacta. Por consiguiente, nuestra explicación sobre la estructura del cromosoma, en este capítulo, se concentrará exclusivamente en los cromosomas eucarióticos.

(A) molecular biology is...



(C) •–– •––•• •• ––•––• •

(D) 细胞生物学乐趣无穷

(E) TTCGAGCGACCTAACCTATAG

Figura 5-8. Los mensajes lineales se presentan en muchas formas. Los lenguajes ilustrados son (A) inglés, (B) una partitura musical, (C) el código Morse, (D) chino y (E) el DNA.

El DNA eucariótico se condensa en muchos cromosomas

En los eucariontes, como nosotros, el DNA en el núcleo está distribuido entre un conjunto de cromosomas diferentes. El genoma humano, por ejemplo, contiene alrededor de $3,2 \times 10^9$ nucleótidos repartidos en 46 cromosomas. Cada cromosoma consiste en una sola molécula de DNA lineal, enormemente larga, asociada con proteínas que pliegan y condensan el delgado filamento de DNA en una estructura más compacta. El complejo de DNA y proteína recibe el nombre de *cromatina*. Además de las proteínas que participan en la compactación del DNA, los cromosomas también están asociados con muchas otras proteínas que intervienen en la expresión génica, la duplicación del DNA y su reparación.

Con excepción de las células germinales (espermatozoides y óvulos) y las células muy especializadas que carecen totalmente de DNA (como los eritrocitos maduros), cada una de las células humanas contiene dos copias de cada cromosoma, una heredada de la madre y otra del padre. Los cromosomas materno y paterno de un par se denominan *cromosomas homólogos*. Los únicos pares de cromosomas no homólogos son los cromosomas sexuales en los varones, donde un *cromosoma Y* se hereda del padre y un *cromosoma X* de la madre.

Además de ser de tamaños diferentes, los cromosomas humanos pueden distinguirse entre sí mediante diversas técnicas. Cada cromosoma puede "pintarse" de un color diferente utilizando conjuntos de moléculas de DNA específicas de cromosomas acopladas a distintos colorantes fluorescentes (Fig. 5-10). Esto comprende la técnica de la hibridación del DNA, que se describirá en detalle en el capítulo 10. Una forma más tradicional de distinguir un cromosoma de otro es teñir el cromosoma con colorantes que se unen a ciertos tipos de secuencias de DNA. Estos colorantes distinguen principalmente entre DNA con abundancia de pares de nucleótidos A-T y DNA con G-C abundantes y producen un modelo de bandas llamativo y confiable a lo largo de cada cromosoma (Fig. 5-11). El modelo de bandas en cada tipo de cromosoma es exclusivo, lo cual permite identificar y numerar cada cromosoma.

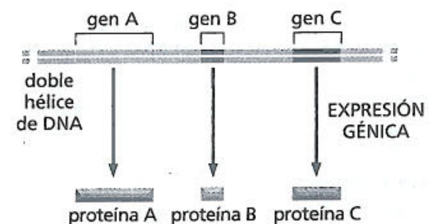


Figura 5-9. Los genes contienen información para la elaboración de proteínas. Como comentamos en el capítulo 7, cada gen codificador de proteína se utiliza para producir moléculas de RNA, las cuales luego dirigen la producción de las moléculas proteicas específicas. En este diagrama no se muestran los intermediarios de RNA.

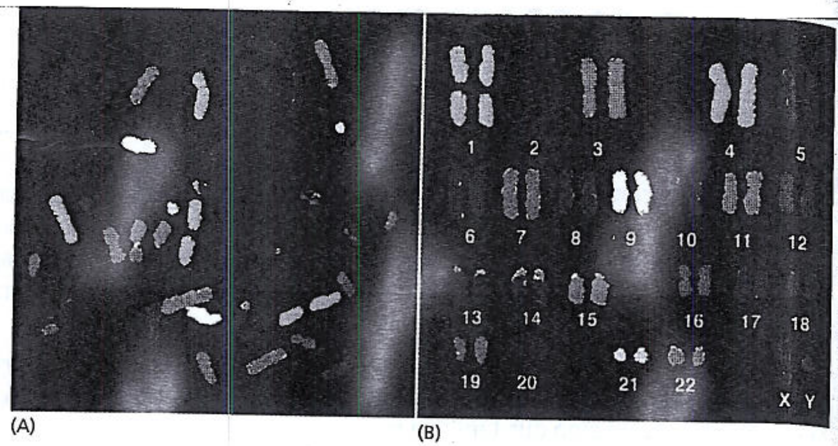


Figura 5-10. Cada cromosoma humano puede "pintarse" de un color diferente para permitir su identificación inequívoca con el microscopio óptico. Los cromosomas que se ilustran aquí se aislaron de una célula en proceso de división nuclear (mitosis) y, en consecuencia, se encuentran en un estado muy compacto. El pintado cromosómico se realiza mediante la exposición de los cromosomas a una colección de moléculas de DNA humano que se han acoplado a una combinación de colorantes fluorescentes. Por ejemplo, las moléculas de DNA derivadas del cromosoma 1 se marcan con una combinación colorante específica, las del cromosoma 2 con otra y así sucesivamente. Dado que el DNA marcado puede formar pares de bases (hibridarse) sólo con su cromosoma de origen (comentado en el capítulo 10), cada cromosoma se marca de un modo diferente. Para estos experimentos, los cromosomas se tratan de modo que la doble hélice del DNA se separe en las cadenas individuales para permitir el apareamiento de bases con el DNA monocatenario marcado mientras se mantiene la estructura cromosómica relativamente intacta. (A) Los cromosomas vistos en la forma en que originalmente se dispersaron de la célula lisada. (B) Los mismos cromosomas se han alineado artificialmente en orden. En este denominado cariotipo los cromosomas homólogos se numeran y ordenan en pares; la presencia de un cromosoma Y indica que el DNA se aisló de un varón. (De E. Schröck et al., *Science* 273:494-497, 1996. Con permiso de la AAAS).

La imagen del conjunto total de los 46 cromosomas humanos ordenados de acuerdo con ciertas pautas recibe el nombre de **cariotipo** humano. Si se pierden partes de un cromosoma o si se las intercambian entre cromosomas, estas alteraciones pueden detectarse por cambios en los modelos de bandas. Los citogenetistas utilizan las alteraciones en los modelos de bandas para detectar anomalías cromosómicas que están asociadas con algunos trastornos hereditarios (Fig. 5-12) y con ciertos tipos de cáncer.

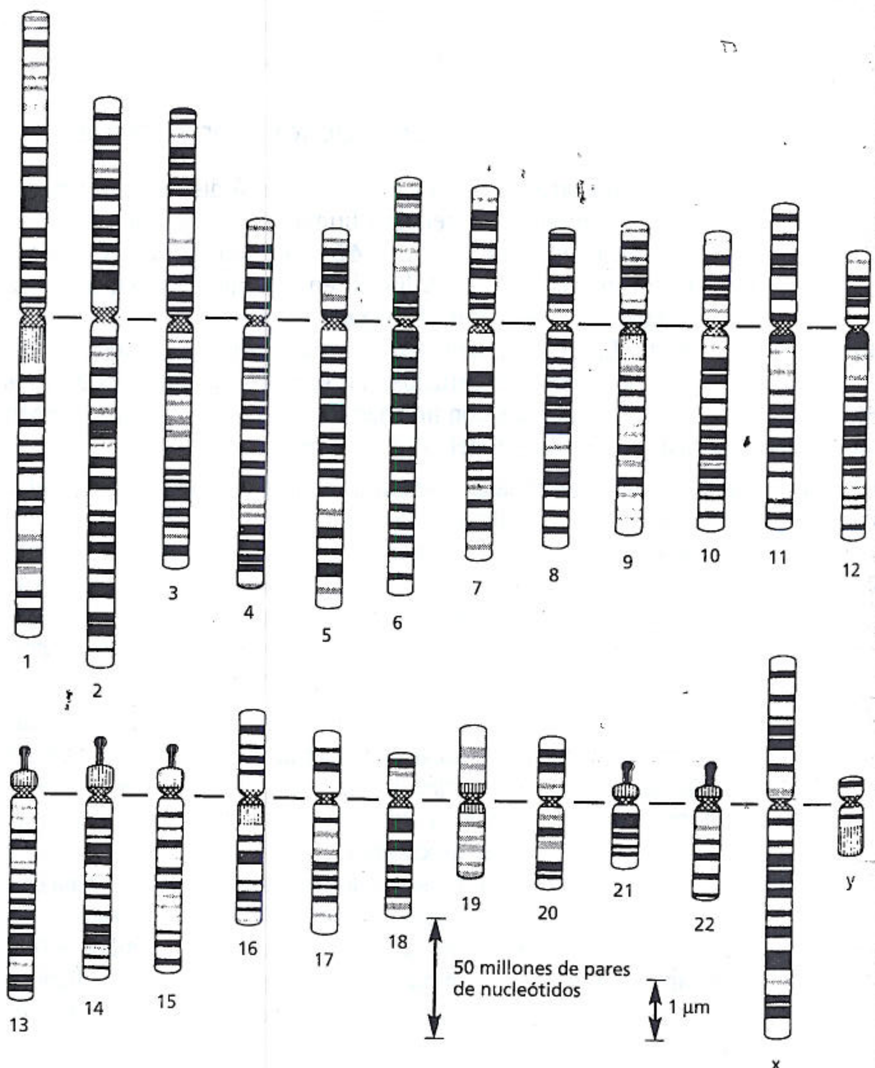


Figura 5-11. Modelos de bandas exclusivos permiten la identificación de cada cromosoma humano. Los cromosomas 1 a 22 se numeran más o menos en un orden de tamaño. Una célula somática (o sea, no germinal) humana típica contiene dos de cada uno de estos cromosomas más dos cromosomas sexuales (dos cromosomas X en una mujer y un cromosoma X y un cromosoma Y en un varón). Los cromosomas utilizados para realizar estos mapas se tiñeron en una etapa inicial de la mitosis, cuando el DNA está compactado, pero no tanto como lo estará más adelante durante la mitosis. La línea *roja* horizontal señala la posición del centrómero, que en los cromosomas mitóticos aparece como una constricción; los botones (*rojo*) en los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22 indican las posiciones de los genes que codifican los RNA ribosómicos grandes (comentado en el capítulo 7). Estos modelos se obtienen mediante la tinción de los cromosomas con el colorante de Giemsa, que produce bandas oscuras en las regiones con una abundancia de pares de nucleótidos A-T. (Adaptado de U. Franke, Cytogenet. Cell Genet. 31:24-32, 1981. Con permiso de la editorial S. Karger AG).

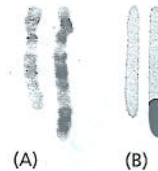


Figura 5-12. Los cromosomas anormales se asocian con algunos defectos genéticos hereditarios. (A) Un par de cromosomas 12 de un paciente con ataxia hereditaria, una enfermedad caracterizada por deterioro progresivo de las capacidades motoras. El paciente tiene un cromosoma 12 normal (*izquierda*) y un cromosoma 12 más largo, anormal. Por su modelo de bandas se determinó que el material adicional contenido en el cromosoma 12 anormal correspondía a un fragmento del cromosoma 4 que se había unido en forma inadecuada al cromosoma 12. (B) En este diagrama los cromosomas de (A) tienen el segmento del DNA correspondiente al cromosoma 4 "pintado" de *rojo* y el DNA correspondiente al cromosoma 12 "pintado" de *azul*. (De E. Schröck et al., *Science* 273:494-497, 1996. Con permiso de la AAAS).

Los cromosomas contienen largas hileras de genes

La función más importante de los cromosomas es transportar los genes, las unidades funcionales de la herencia (Fig. 5-13). Un **gen** suele definirse como un segmento de DNA que contiene las instrucciones para la elaboración de una proteína particular o, en algunos casos, un conjunto de proteínas de parentesco muy cercano. Aunque esta definición se adapta a la mayoría de los genes, algunos genes dirigen la producción de una molécula de RNA, en lugar de una proteína, como su producto final. Al igual que las proteínas, estas moléculas de RNA realizan un conjunto de funciones estructurales y catalíticas en la célula, como veremos en capítulos posteriores.

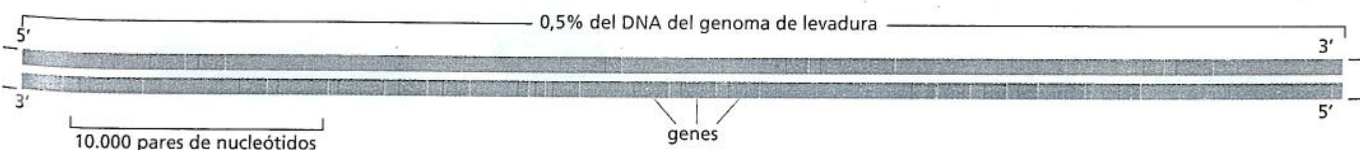
PREGUNTA 5-2

En una doble hélice de DNA hay un par de nucleótidos cada 0,34 nm. Úsese la Figura 5-11 para calcular la longitud del DNA en el cromosoma 1 humano si estuviese desenrollado y estirado. Si la longitud real del cromosoma 1 en esta etapa de la mitosis es de alrededor de 10 µm, ¿cuál es el grado de condensación del DNA en esta etapa?

Como podría esperarse, existe alguna correlación entre la complejidad de un organismo y la cantidad de genes en su genoma. Por ejemplo, la cantidad total de genes oscila entre menos de 500 para una bacteria simple y 25.000 para los seres humanos. Las bacterias y algunos eucariontes unicelulares poseen genomas compactos, en especial, las moléculas de DNA que constituyen sus cromosomas tienen genes en forma muy compacta. Sin embargo, los cromosomas de muchos eucariontes (incluidos los seres humanos) además de los genes contienen un gran exceso de DNA interpuesto, que no parece transportar información decisiva. A veces, este DNA recibe el nombre de "DNA basura" porque su utilidad para la célula aún no se ha demostrado claramente. Aunque la secuencia particular de nucleótidos de la mayor parte de este DNA podría no ser importante, el DNA mismo, al actuar como material espaciador, sería crucial para la evolución de la especie a largo plazo y para la actividad adecuada de los genes. Además, las comparaciones de las secuencias genómicas de muchas especies diferentes revelan que una porción de este DNA adicional se encuentra muy conservada entre especies emparentadas, lo cual indica que cumple una función importante, aunque aún no sabemos cuál es. Nos ocuparemos de esta cuestión en detalle en el capítulo 9.

En general, cuanto más complejo es un organismo, más grande es su genoma. Pero esta relación no siempre se cumple. El genoma humano, por ejemplo, es 200 veces más grande que el de la levadura *S. cerevisiae*, pero 30 veces más pequeño que el de algunos vegetales y, por lo menos, 60 veces más pequeño que el de ciertas especies de amebas. Además, el modo en que el DNA se distribuye en cromosomas también es diferente de una especie a otra. Los seres humanos tienen 46 cromosomas, pero una especie de cérvido pequeño sólo posee 6, mientras que algunas especies de carpa tienen más de 100. Incluso especies de parentesco cercano con tamaños genómicos semejantes pueden tener cantidades y tamaños de cromosomas muy diferentes (Fig. 5-14). Así, aunque la cantidad de los genes se

Figura 5-13. Los genes se distribuyen a lo largo de los cromosomas. Esta figura muestra una región pequeña de un cromosoma de la levadura *S. cerevisiae*, que se multiplica por brotación. El genoma de *S. cerevisiae* contiene alrededor de 6.300 genes –más de 12 millones de pares de nucleótidos– extendidos en 16 cromosomas. Obsérvese que en cada gen sólo una de las dos cadenas de DNA realmente codifica la información para elaborar una proteína o una molécula de RNA y esto puede realizarlo cualquiera de las cadenas, como lo indican las barras en *rojo claro*. Sin embargo, por lo general, se denota que un gen contiene esta cadena y su complementaria, como en la figura 5-9. La densidad elevada de los genes es característica de la especie.



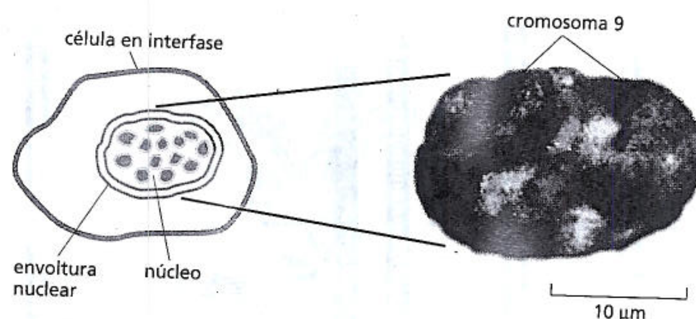


Figura 5-18. Los cromosomas interfásicos ocupan territorios diferentes dentro del núcleo. Para pintar los cromosomas interfásicos individuales en una célula humana se utilizan sondas de DNA acopladas a distintos marcadores fluorescentes. Con el microscopio de fluorescencia, se comprueba que cada cromosoma interfásico ocupa su propio territorio definido dentro del núcleo en lugar de estar mezclado con los otros cromosomas como fideos en un plato. Obsérvese que los pares de cromosomas homólogos presentes en una célula diploide (p.ej., las dos copias del cromosoma 9 indicadas) por lo general no se encuentran ubicados en la misma posición. (De M. R. Speicher y N. P. Carter, *Nat. Rev. Genet.* 6:782-792, 2005. Con permiso de Macmillan Publishers Ltd.).

Los cromosomas interfásicos están organizados dentro del núcleo

El núcleo está delimitado por una *envoltura nuclear* formada por dos membranas concéntricas. La envoltura nuclear está perforada a intervalos por los poros nucleares, los cuales transportan en forma activa moléculas seleccionadas hacia el citosol y desde éste (proceso descrito en detalle en el capítulo 15) y está sustentada por la *lámina nuclear*, una red de filamentos proteicos que forman una capa delgada por debajo de la membrana nuclear interna (que se comenta en el capítulo 17).

No obstante, dentro del núcleo los cromosomas interfásicos –aunque más largos y más finos que los cromosomas mitóticos– están organizados de modos diversos. Primero, cada cromosoma interfásico tiende a ocupar una región particular del núcleo y, así los diferentes cromosomas no se enredan demasiado entre sí (Fig. 5-18). Además, regiones específicas de cromosomas están adheridas a sitios en la envoltura nuclear o en la lámina nuclear.

El ejemplo más obvio de organización cromosómica en el núcleo de interfase es el **nucléolo** (Fig. 5-19). El nucléolo constituye una acumulación de las partes de los cromosomas diferentes que transportan los genes para el RNA ribosómico (los botones rojos en la figura 5-11). Aquí se sintetizan los RNA ribosómicos y se combinan con proteínas formando los ribosomas, las máquinas sintetizadoras de proteínas de la célula (que se comentarán en el capítulo 7).

El DNA en los cromosomas está muy condensado

Como ya hemos visto, todas las células eucarióticas, estén en interfase o en mitosis, compactan densamente su DNA en cromosomas. Por ejemplo, el cromosoma 22 humano contiene unos 48 millones de pares de nucleótidos; estirado, su DNA mediría de extremo a extremo alrededor de 1,5 cm. Sin embargo, durante la mito-

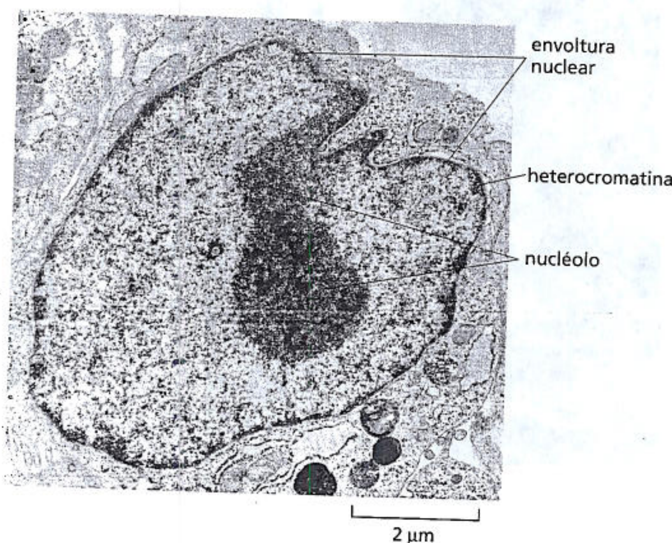


Figura 5-19. El nucléolo es la estructura más prominente del núcleo en interfase. Microfotografía electrónica de un corte fino a través del núcleo de un fibroblasto humano. El núcleo está rodeado por una membrana doble llamada envoltura nuclear. Dentro del núcleo la cromatina aparece como una masa moteada difusa con regiones cromosómicas especialmente densas, la llamada heterocromatina (electrodensidad). La heterocromatina tiene pocos genes y se encuentra sobre todo alrededor de la periferia, justo por debajo de la envoltura nuclear. La región oscura (electrodensa) grande es el nucléolo, el cual contiene los genes que codifican el RNA ribosómico; estos genes están ubicados en cromosomas múltiples pero se hallan acumulados en el nucléolo. (Gentileza de E. G. Jordan y J. McGovern).

Figura 5-20. El DNA en los cromosomas interfásicos es menos compacto que el de los cromosomas mitóticos. Una microfotografía electrónica que muestra una maraña enorme de DNA cromosómico (con sus proteínas asociadas) que se derrama de un núcleo en interfase lisado. Con fines comparativos se muestra a la misma escala una silueta de un cromosoma mitótico humano condensado. (Gentileza de Victoria Foe).



sis el cromosoma 22 mide sólo unos 2 μm de longitud, es decir que es casi 10.000 veces más compacto que el DNA en su forma extendida. Esta extraordinaria proeza de compresión es realizada por proteínas que enrollan y pliegan el DNA en niveles de organización cada vez más elevados. El DNA de los cromosomas interfásicos, si bien menos condensado que el de los cromosomas mitóticos (Fig. 5-20), está muy compactado, con una proporción de alrededor de 500 veces.

En las secciones siguientes presentaremos las proteínas especializadas que hacen posible esta compresión, pero téngase en cuenta que la estructura cromosómica es dinámica. Los cromosomas no sólo se condensan y se relajan en concordancia con el ciclo celular, sino que diferentes regiones del cromosoma interfásico deben descondensarse permitiendo que las células tengan acceso a secuencias específicas del DNA para la duplicación, la reparación o la expresión génica. La compactación cromosómica es lo bastante flexible lo que permite el acceso al DNA en forma rápida, localizada y según la necesidad.

Los nucleosomas son las unidades básicas de la estructura cromosómica eucariótica

Las proteínas que se unen al DNA formando los cromosomas eucarióticos se dividen tradicionalmente en dos clases generales: las **histonas** y las no histonas. Las histonas se encuentran en una cantidad enorme (más de 60 millones de moléculas de varios tipos diferentes en cada célula) y su masa total en los cromosomas es más o menos igual a la del DNA mismo. El complejo de ambas clases de proteínas con el DNA nuclear recibe el nombre de **cromatina**.

Las histonas son responsables del primer nivel y el más fundamental de compactación cromatínica, el **nucleosoma**, descubierto en 1974. Cuando núcleos en interfase se fragmentan con mucho cuidado y se examina su contenido en el microscopio electrónico, la mayoría de la cromatina se encuentra en la forma de fibras, cada una con un diámetro de unos 30 nm (Fig. 5-21A). Si se somete esta cromatina a tratamientos que la hacen desenrollar parcialmente, entonces, bajo el microscopio electrónico, puede verse como una serie de "perlas de collar, enhebradas en un hilo" (Fig. 5-21B). El hilo es el DNA y cada una de las perlas es una *partícula central de nucleosoma* que consiste en DNA enrollado alrededor de un centro de proteínas histonas.

La estructura de la partícula central de nucleosoma se determinó luego de haber aislado primero nucleosomas de la cromatina desplegada por digestión con enzimas par-

PREGUNTA 5-3
Suponiendo que el octámero de histonas forma un cilindro de 9 nm de diámetro y 5 nm de altura y que el genoma humano forma 32 millones de nucleosomas, ¿qué volumen del núcleo (6 μm de diámetro) está ocupado por octámeros histónicos? (El volumen de un cilindro es $\pi r^2 h$; el volumen de una esfera es $4/3\ \pi r^3$.) ¿Qué fracción del volumen total del núcleo ocupan los octámeros de histonas? ¿Cómo se compara esto con el volumen del núcleo ocupado por el DNA humano?

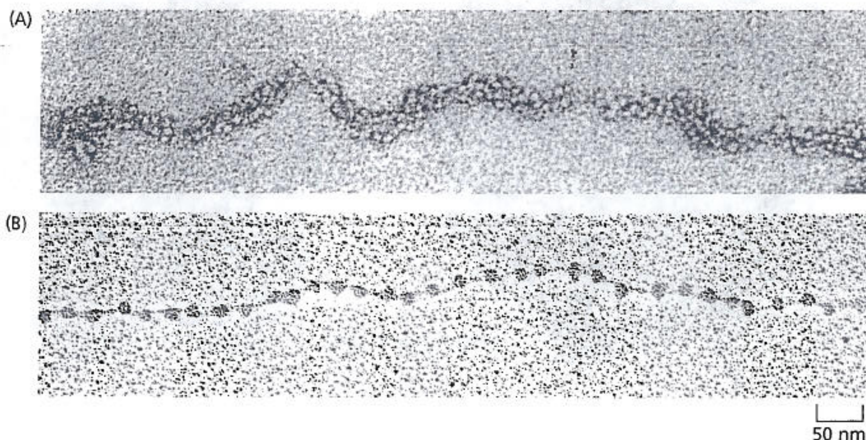


Figura 5-21. Los nucleosomas pueden verse con el microscopio electrónico. (A) La cromatina aislada directamente de un núcleo en interfase en la microscopia electrónica aparece como fibras de 30 nm de diámetro; aquí se muestra una parte de una de esas fibras. (B) En esta microfotografía electrónica se ve un segmento de una fibra cromatínica que se ha desenrollado (descondensado) experimentalmente luego del aislamiento para mostrar los nucleosomas. (A, gentileza de Barbara Hamkalo; B, gentileza de Victoria Foe).

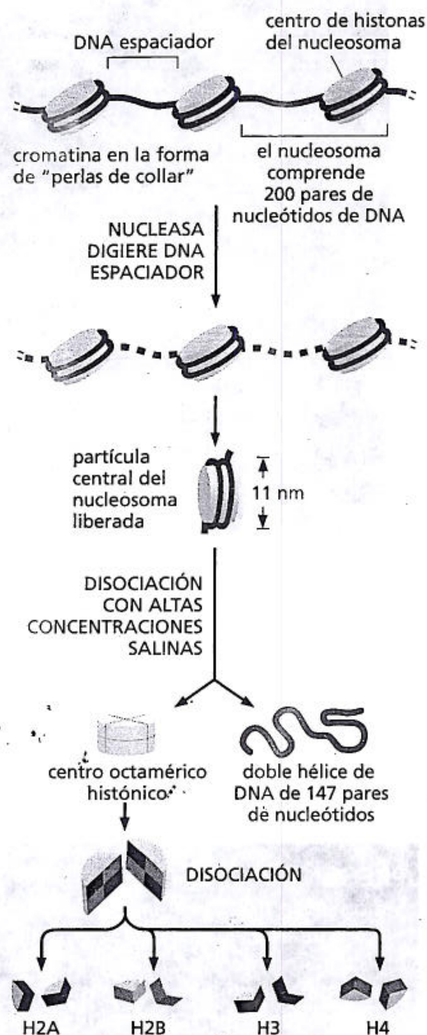


Figura 5-22. Los nucleosomas contienen DNA enrollado alrededor de un centro proteico de ocho moléculas de histonas. En un tubo de ensayo, la partícula central del nucleosoma puede liberarse de la cromatina por digestión del DNA espaciador con una nucleasa, una enzima que degrada el DNA. (La nucleasa puede degradar el DNA expuesto pero no puede atacar el DNA enrollado apretadamente alrededor del centro del nucleosoma.) Luego de que el nucleosoma aislado se disocia en su centro proteico y su DNA, la longitud del DNA que estaba enrollado alrededor del centro puede determinarse. Su longitud de 147 pares de nucleótidos es suficiente para enrollarse casi dos veces alrededor del centro de histonas.

ticulares (llamadas nucleasas) que degradan el DNA mediante la realización de cortes entre los nucleótidos. Después de la digestión por un período breve, sólo se degrada el DNA expuesto entre las partículas centrales, el *DNA ligador* o *espaciador*. Una partícula central de nucleosoma individual consiste en un complejo de ocho proteínas histona –dos moléculas de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4– y el DNA bicatenario, de una longitud de 147 pares de nucleótidos, que se enrosca alrededor del *octámero histónico* (Fig. 5-22). La estructura de alta resolución de la partícula central del nucleosoma se descubrió en 1997, lo que permitió conocer con detalle atómico el complejo histónico discoide alrededor del cual el DNA se enrolla en forma apretada y describe 1,7 vueltas en una hélice levógira (Fig. 5-23).

La longitud del DNA espaciador entre cada partícula central de nucleosoma puede variar desde unos pocos pares de nucleótidos hasta cerca de 80. Técnicamente, el término nucleosoma se refiere a una partícula central de nucleosoma más uno de sus DNA espaciadores contiguos (véase Fig. 5-22), pero con frecuencia se usa para designar sólo la partícula central de nucleosoma. La formación de nucleosomas convierte una molécula de DNA en un filamento de cromatina de alrededor de un tercio de su longitud inicial y provee el primer nivel de condensación del DNA.

Las cuatro histonas que componen el centro del nucleosoma son proteínas relativamente pequeñas con una gran proporción de aminoácidos con carga positiva (lisina y arginina). Las cargas positivas contribuyen a que las histonas se unan con firmeza al esqueleto de pentosa-fosfato del DNA, de cargas negativas. Estas interacciones abundantes explican en parte por qué el DNA de prácticamente cualquier secuencia puede unirse a un centro de histonas. Cada una de las histonas centrales también posee una "cola" de aminoácidos N-terminal larga que sobresale de la partícula central de nucleosoma (véase Fig. 5-23). Estas colas de las histonas están sometidas a varios tipos de modificaciones químicas covalentes que controlan muchos aspectos de la estructura cromatínica.

Las histonas que forman el centro del nucleosoma están entre las más conservadas de todas las proteínas eucarióticas conocidas: por ejemplo, sólo hay dos dife-

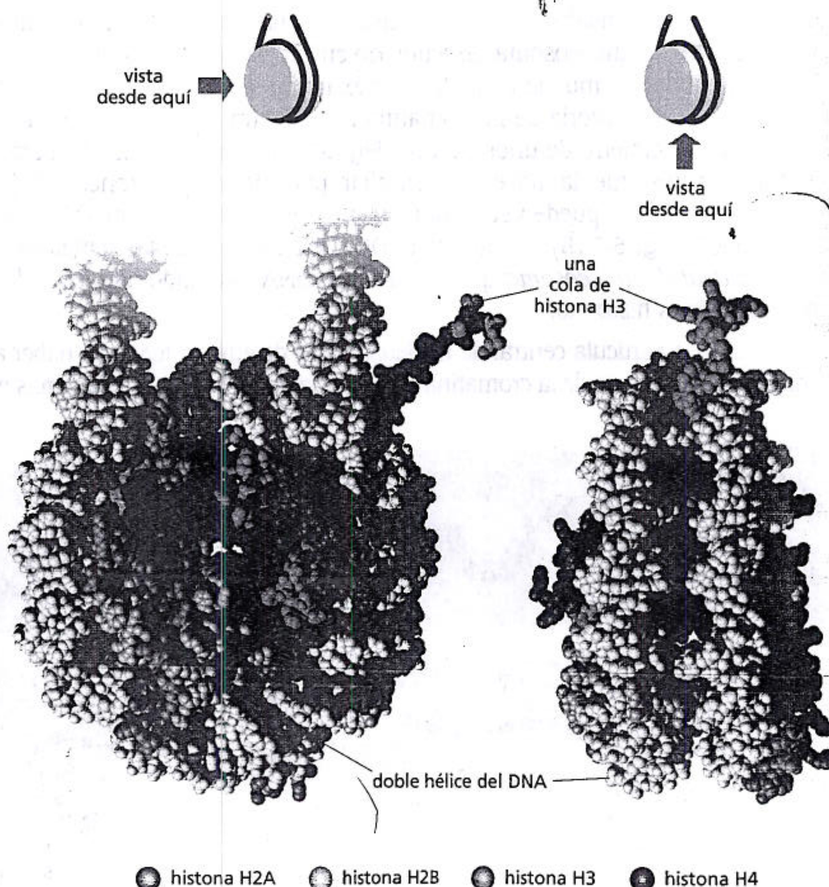


Figura 5-23. La estructura de la partícula central del nucleosoma, según se determinó mediante el análisis de difracción de rayos X, revela cómo el DNA está enrollado apretadamente alrededor de un centro histónico discoide. Aquí se muestran dos vistas de la estructura de un nucleosoma. La hélice de DNA es *gris*. Una porción de la cola de una histona H3 (*verde*) puede verse extendiéndose desde el nucleosoma, pero las colas de las otras histonas se han truncado. (Reproducido con permiso de K. Luger et al., *Nature* 389:251-260, 1997. Con permiso de Macmillan Publishers Ltd.).

rencias entre las secuencias de aminoácidos de la histona H4 del guisante y de la vaca. Esta conservación evolutiva extrema es un reflejo de la función vital de las histonas en el control de la estructura de los cromosomas eucarióticos. No hace mucho, también se encontraron histonas en arqueobacterias procariontes que forman un dominio filogenético diferente del de los eucariontes y las eubacterias (que se comentan en el capítulo 1).

La condensación cromosómica ocurre en muchos niveles

Aunque en la mayoría del DNA cromosómico se forman largas hileras de nucleosomas, en la célula viva la cromatina rara vez adopta la forma extendida de perlas de collar como aparece en la figura 5-21B. En cambio, los nucleosomas se condensan adicionalmente uno contra otro generando una estructura más compacta, la fibra de 30 nm (véase Fig. 5-21A). La condensación de los nucleosomas en la fibra de 30 nm depende de una quinta histona denominada H1, la cual se cree que acerca los nucleosomas formando una agrupación repetitiva regular. Esta histona "ligadora" cambia la dirección que toma el DNA al abandonar el centro del nucleosoma, lo cual permite formar una estructura más compacta (Fig. 5-24). La fibra de 30 nm resultante se ilustra en la Película 5.2 y la figura 5-25, donde se ofrece una reseña de los niveles de condensación cromosómica.

Sabemos que la fibra cromatínica de 30 nm puede condensarse aun más. Como vimos en este capítulo, durante la mitosis la cromatina se condensa tanto que los cromosomas pueden verse con el microscopio óptico. ¿Cómo se pliega la fibra de 30 nm de los cromosomas mitóticos? La respuesta todavía no se conoce en detalle pero se sabe que la fibra de 30 nm se pliega en una serie de bucles y que estos

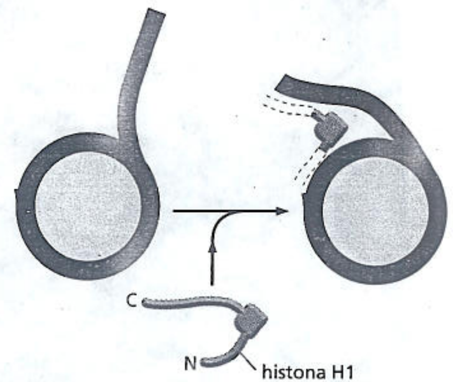


Figura 5-24. Una histona ligadora contribuye a acercar los nucleosomas formando la fibra de 30 nm. La histona H1 se compone de una región globular más un par de colas largas en sus extremos C-terminal y N-terminal. La región globular constriñe 20 pares de bases adicionales del DNA cuando éste abandona el centro nucleosómico, una actividad que se cree que es importante para la formación de la fibra de 30 nm. La larga cola C-terminal es necesaria para que la H1 se una a la cromatina, pero se desconoce su posición y la posición de la cola N-terminal.

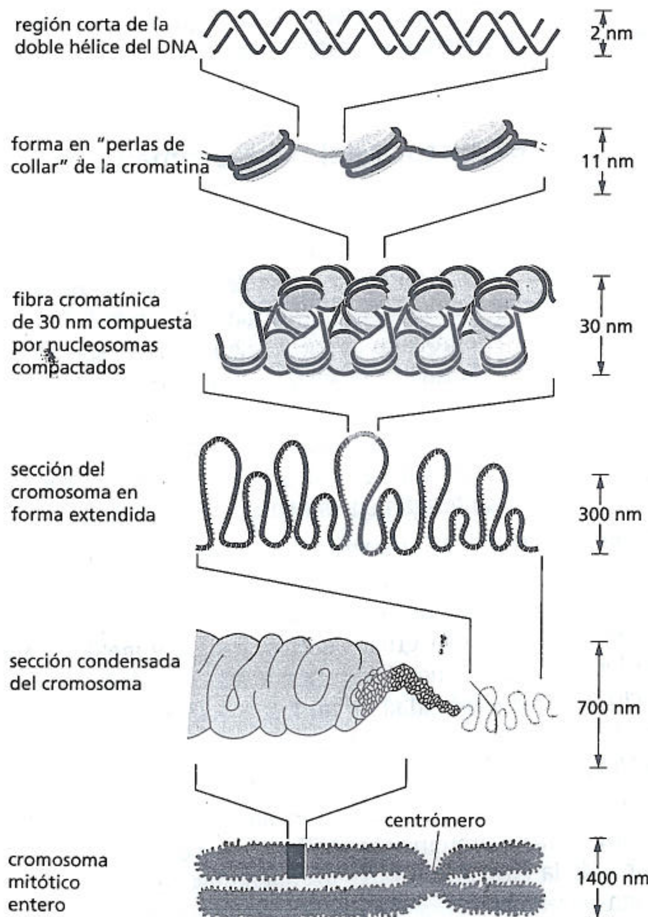


Figura 5-25. En los cromosomas, la condensación del DNA ocurre en varios niveles. Este dibujo esquemático muestra algunos de los niveles que se cree que dan origen al cromosoma mitótico muy condensado.

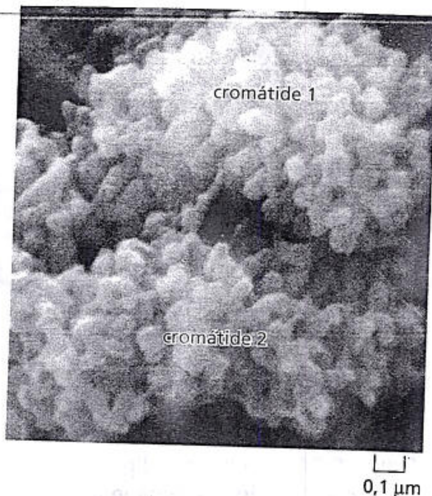


Figura 5-26. El cromosoma mitótico se forma a partir de cromatina muy condensada. Esta microfotografía electrónica de barrido muestra una región cercana a un extremo de un cromosoma mitótico típico. Se cree que cada proyección con aspecto de prominencia representa el extremo de un bucle de cromatina diferente. El cromosoma se ha duplicado y los dos cromosomas nuevos (llamados cromátides) todavía se encuentran unidos (véase Fig. 5-17). Los extremos de los dos cromosomas pueden distinguirse a la derecha de la foto. (De M. P. Marsden y U. K. Laemmli, *Cell* 17:849-858, 1989. Con permiso de Elsevier).

bucles se condensan aun más. Por último, se cree que esta serie compacta de bucles sufre por lo menos, un nivel de condensación adicional que forma el cromosoma mitótico (véanse **Figs. 5-25** y **5-26**).

LA REGULACIÓN DE LA ESTRUCTURA CROMOSÓMICA

Hasta el momento hemos comentado cómo el DNA se compacta densa y cuidadosamente. Ahora nos ocuparemos de cómo esta condensación puede ser dinámica lo que permite el acceso rápido al DNA subyacente. El DNA de las células transporta cantidades enormes de información codificada y las células tienen que ser capaces de obtener esta información de acuerdo con las necesidades.

En esta sección comentaremos cómo una célula puede alterar la estructura de su cromatina y exponer regiones localizadas del DNA permitiendo el acceso de proteínas específicas, en particular las que participan en la expresión génica y en la duplicación y la reparación del DNA. Luego describimos cómo se establece y se mantiene la estructura cromatínica y cómo una célula puede traspasar algunas formas de esta estructura a sus descendientes. La regulación y la herencia de la estructura cromatínica desempeñan un papel importante en el desarrollo y el crecimiento de los organismos eucarióticos.

PREGUNTA 5-4

Las histonas están entre las proteínas más conservadas de los eucariontes. Las histonas H4 de un guisante y de una vaca, por ejemplo, difieren en solo 2 de 102 aminoácidos. La comparación de las secuencias génicas muestra muchas diferencias más, pero sólo dos que cambian los aminoácidos codificados. Estas observaciones indican que las mutaciones que cambian aminoácidos deben ser evitadas. ¿Por qué supone Ud. que las mutaciones que alteran aminoácidos en los genes de las histonas son perjudiciales?

Los cambios en la estructura del nucleosoma permiten el acceso al DNA

Las células eucarióticas tienen varias formas de ajustar con rapidez la estructura local de su cromatina. Una forma aprovecha **complejos de remodelación de la cromatina**, máquinas proteicas que utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para cambiar la posición del DNA enrollado alrededor de los nucleosomas. Al empujar el DNA firmemente unido mientras se desplazan, estos complejos pueden aflojar (descondensar) el DNA subyacente, lo cual lo torna más accesible a otras proteínas en la célula (**Fig. 5-27**). Durante la mitosis por lo menos algunos de los complejos de remodelación de la cromatina se inactivan, lo cual puede contribuir a que los cromosomas mitóticos mantengan su estructura muy condensada.

Otra forma de alterar la estructura cromatínica consiste en la modificación química reversible de las histonas. Las colas de las cuatro histonas centrales están sujetas, en particular, a estas modificaciones covalentes. Por ejemplo, enzimas residentes en el núcleo pueden añadir grupos acetilo, fosfato y metilo al nucleosoma armado o extraerlos de él. Estas modificaciones de las colas de las histonas tienen poco efecto directo sobre la estabilidad de un nucleosoma individual. Pero parece que algunas afectan de modo directo la estabilidad de la fibra cromatínica de 30 nm y las estructuras de orden superior comentadas antes.

Lo más importante es que estas modificaciones afectan la capacidad de las colas de las histonas para unirse a proteínas específicas y por ello reclutarlas hacia segmentos particulares de la cromatina. Modelos diferentes de modificaciones de las colas de las histonas atraen proteínas diferentes, algunas de las cuales causan una modificación adicional de la cromatina, mientras que otras facilitan el acceso al DNA mediante la descondensación de la cromatina. Las combinaciones específicas de modificaciones de las colas y las proteínas que se unen a ellas tienen sig-

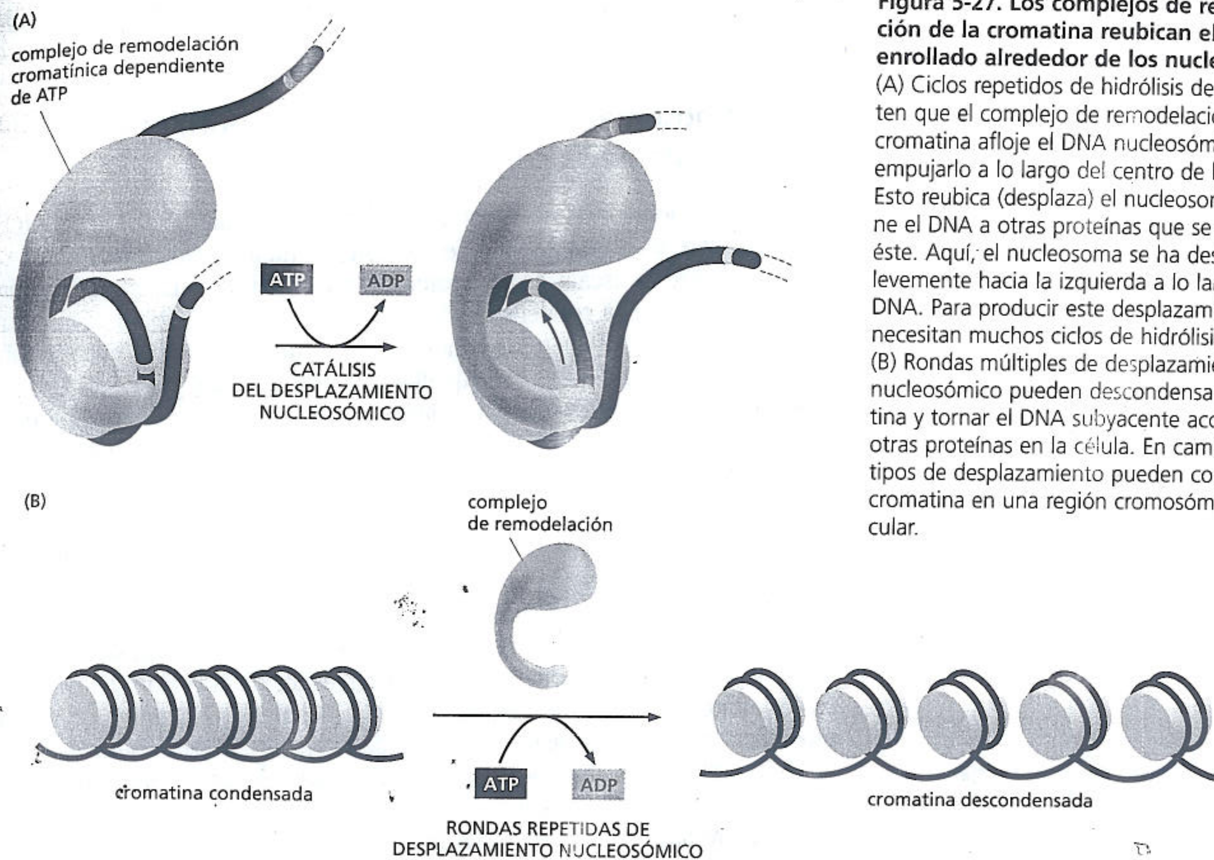


Figura 5-27. Los complejos de remodelación de la cromatina reubican el DNA enrollado alrededor de los nucleosomas. (A) Ciclos repetidos de hidrólisis de ATP permiten que el complejo de remodelación de la cromatina afloje el DNA nucleosómico al empujarlo a lo largo del centro de histonas. Esto reubica (desplaza) el nucleosoma y expone el DNA a otras proteínas que se unen a éste. Aquí, el nucleosoma se ha deslizado levemente hacia la izquierda a lo largo del DNA. Para producir este desplazamiento se necesitan muchos ciclos de hidrólisis de ATP. (B) Rondas múltiples de desplazamiento nucleosómico pueden descondensar la cromatina y tornar el DNA subyacente accesible a otras proteínas en la célula. En cambio, otros tipos de desplazamiento pueden condensar la cromatina en una región cromosómica particular.

nificados diferentes para la célula: por ejemplo, un modelo indicaría que un segmento particular de la cromatina acaba de duplicarse, mientras que otro indicaría que los genes en esa cromatina deben expresarse (Fig. 5-28).

Al igual que los complejos de remodelación de la cromatina, las enzimas que modifican las colas de las histonas están sujetas a una regulación estricta. Son atraídas a una región particular de la cromatina por otras señales, en particular por interacciones con proteínas que se unen a secuencias específicas del DNA (comentamos estas proteínas en el capítulo 8). Las enzimas modificadoras de histonas funcionan en concordancia con los complejos de remodelación cromatínica condensando o descondensando segmentos de cromatina, esto permite que la

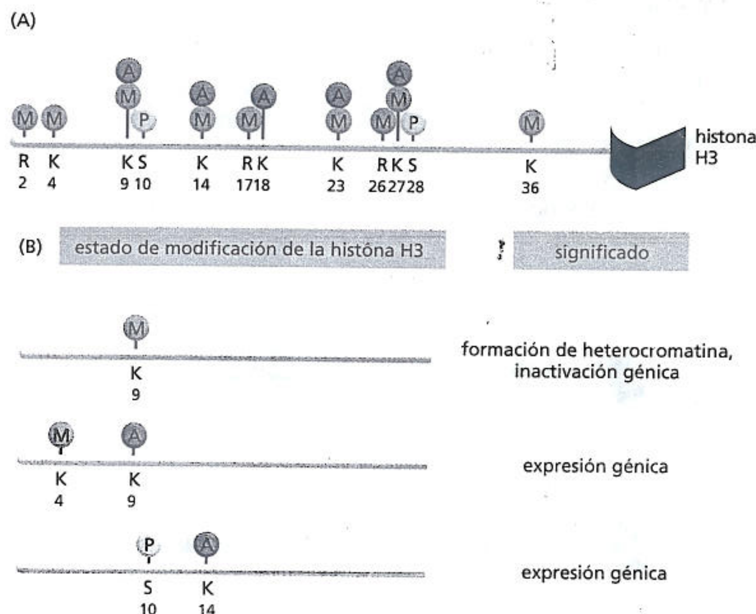


Figura 5-28. El modelo de modificación de las colas de las histonas puede dictar cómo la célula trate a un segmento de cromatina. (A) Cada histona puede modificarse por la unión covalente de una cantidad de grupos químicos diferentes. La histona H3, por ejemplo, puede recibir un grupo acetilo (A), un grupo metilo (M) o un fosfato (P). Los números indican las posiciones de los aminoácidos modificados en la cadena proteica. Obsérvese que algunas posiciones (p.ej., lisinas 9, 14, 23 y 27) pueden modificarse en más de una forma. Además, las lisinas pueden modificarse con uno, dos o tres grupos metilo (no se ilustra). Nótese que la histona H3 contiene 135 aminoácidos, la mayoría de los cuales está en su porción globular (cuña), y que la mayor parte de las modificaciones ocurre en su cola N-terminal. (B) Combinaciones diferentes de modificaciones de colas histónicas pueden conferir un significado específico sobre el segmento de cromatina en el que ocurren, según se indica. Sólo se conocen algunos de estos "significados".

estructura cromatínica local cambie con rapidez de acuerdo con las necesidades de la célula.

Los cromosomas interfásicos contienen formas de cromatina tanto condensada como más extendida

La alteración localizada de la condensación de la cromatina por los complejos de remodelación y la modificación de las histonas tiene efectos importantes sobre la estructura a gran escala de los cromosomas interfásicos. La cromatina en estos cromosomas no está condensada de modo uniforme. En cambio, las regiones del cromosoma que contienen los genes que se están expresando, en general, están más desplegadas, mientras que aquellas que contienen los genes latentes son más compactas. Así, la estructura detallada de un cromosoma interfásico puede ser diferente de un tipo celular a otro, lo cual contribuye a determinar qué genes se expresan.

La forma de grado mayor de condensación de la cromatina interfásica se denomina **heterocromatina** (del gr. *heteros*, "diferente" + cromatina). Inicialmente, se identificó con el microscopio óptico, en la década de 1930, como regiones definidas de tinción intensa dentro de la masa de la cromatina. La heterocromatina típicamente constituye alrededor del 10% de un cromosoma interfásico y en los cromosomas de mamífero está concentrada alrededor de la región del centrómero y en los telómeros, en los extremos de los cromosomas. Un conjunto particular de modificaciones de colas histónicas, incluida la metilación del residuo de lisina 9 en la histona H3 (véase Fig. 5-28) induce la producción de la forma más común de heterocromatina. Estas modificaciones atraen un conjunto de proteínas específicas de heterocromatina que luego inducen las mismas modificaciones de colas histónicas en nucleosomas contiguos. A su vez, las nuevas modificaciones de las colas reclutan el mismo conjunto de proteínas específicas de heterocromatina, lo cual causa que una onda expansiva de cromatina condensada se propague a lo largo del cromosoma. De esta forma se establece una región extensa de heterocromatina a lo largo del DNA.

La mayor parte del DNA plegado permanentemente en heterocromatina en la célula no contiene genes, debido a que la heterocromatina es tan compacta, los genes que por accidente se condensan en heterocromatina no suelen expresarse (Fig. 5-29). Esta compactación inadecuada de los genes en la heterocromatina puede causar enfermedad, en los seres humanos, el gen que codifica la globina β (que forma parte de la hemoglobina, molécula transportadora de oxígeno) está situado junto a una región de cromatina condensada. A causa de una deleción hereditaria del DNA esa región de heterocromatina se expande, el gen de la globina β se expresa poco y la persona desarrolla una forma grave de anemia.

Tal vez el ejemplo más notable del uso de la heterocromatina para mantener inactivos o *silenciados* a genes se encuentra en los cromosomas X interfásicos de las hembras de mamíferos. Las células femeninas contienen dos cromosomas X, mientras que las células masculinas contienen un cromosoma X y un cromosoma Y. Debido a que una dosis doble de productos del cromosoma X sería letal, las

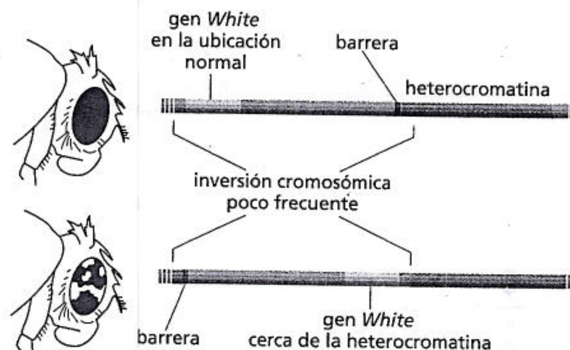


Figura 5-29. La expresión de un gen puede alterarse mediante el traslado de éste a otro sitio del genoma. Esta figura muestra un ejemplo de un *efecto de posición*, en el cual la actividad de un gen depende de su posición a lo largo de un cromosoma. El gen *White* en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) controla la producción de pigmento ocular y su nombre proviene de la mutación a través de la cual se le identificó originalmente. Las moscas de tipo silvestre con un gen *White* normal (*White+*) producen pigmento con normalidad, lo cual les imparte ojos rojos, pero si el gen *White* está mutado e inactivado, las moscas mutantes (*White–*) no elaboran pigmento y adquieren ojos blancos. En las moscas de tipo silvestre, el gen *White* (que aquí se ilustra en *amarillo*) está situado a cierta distancia de la región de heterocromatina más cercana (*verde*). Una *secuencia de barrera* especial (*rojo*) impide la expansión de la heterocromatina hacia regiones contiguas del cromosoma. En las moscas en las que una inversión de una región del cromosoma acerca el gen *White+* normal a la región de heterocromatina y desplaza la secuencia de barrera, los ojos son moteados, con parches rojos y blancos. Los parches blancos representan células donde el gen *White+* ha sido silenciado por los efectos de la heterocromatina; los parches rojos representan células que expresan el gen *White+* porque la heterocromatina no se ha expandido sobre este gen en el momento durante el desarrollo temprano en el que se formó la célula fundadora de estos parches. La presencia de parches grandes de células rojas y blancas indica que el estado particular del gen (ya sea activo o silenciado) se establece temprano durante el desarrollo y a partir de entonces lo heredan las células de la progenie.

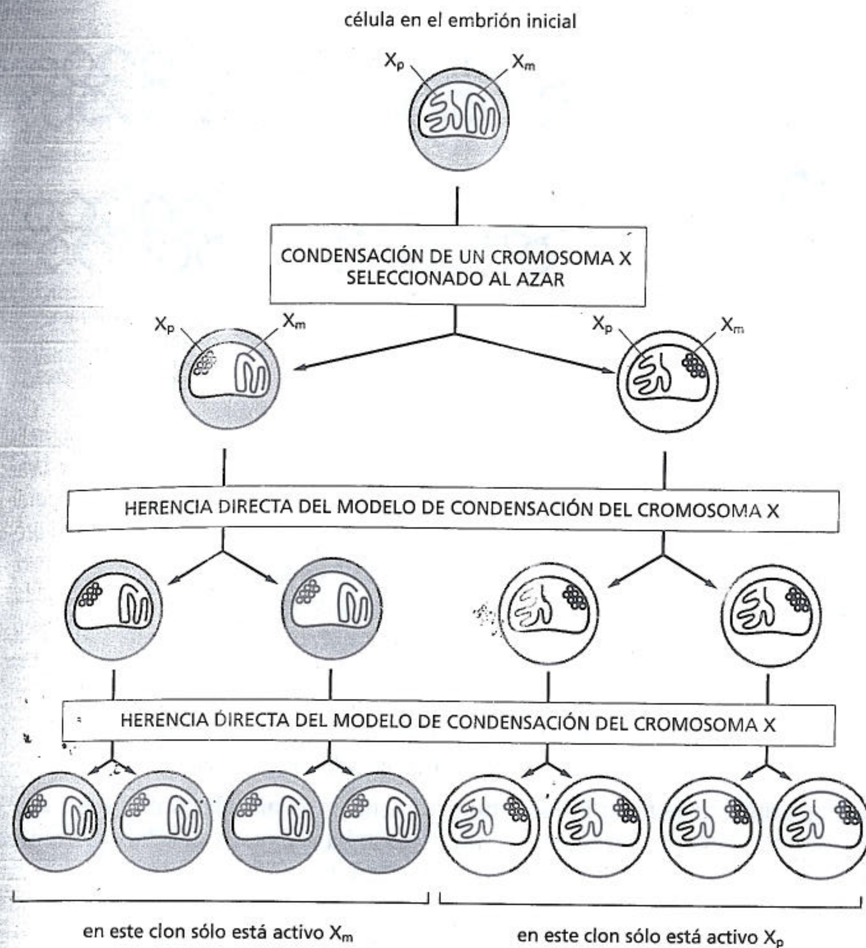


Figura 5-30. Un cromosoma X puede inactivarse por la formación de heterocromatina. Cada una de las células del embrión inicial de mamífero hembra contiene dos cromosomas X, uno de la madre (X_m) y otro del padre (X_p). En una etapa temprana del desarrollo uno de estos dos cromosomas se condensa en heterocromatina en cada célula, al parecer en forma aleatoria. En cada división celular luego de esta etapa, el mismo cromosoma se condensa en todas las descendientes de esa célula original. En los ratones, la inactivación del cromosoma X ocurre entre el tercero y el sexto día del desarrollo embrionario. En los seres humanos la inactivación del cromosoma X también ocurre muy al principio del desarrollo embrionario, antes de que las células hayan sido asignadas a cualquier vía de desarrollo particular. Por consiguiente, todas las hembras de mamífero terminan como mosaicos de células que portan cromosomas X inactivados maternos o paternos. En la mayoría de sus tejidos y órganos, más o menos la mitad de las células será de un tipo y la otra mitad será del otro.

hembras de los mamíferos desarrollaron una forma de inactivar permanentemente uno de los dos cromosomas X en cada célula. Al azar, uno u otro de los dos cromosomas X en cada célula sufre una gran condensación en heterocromatina al principio del desarrollo embrionario. A partir de entonces, el estado condensado e inactivo de ese cromosoma X se hereda en todos los muchos descendientes de esas células (Fig. 5-30).

El resto de la cromatina interfásica recibe el nombre de **eucromatina** (del gr. *eu*, "verdadero" o "normal" + cromatina). Aunque usamos el término eucromatina para referirnos a la cromatina que existe en un estado más extendido o desplegado que la heterocromatina, en la actualidad se sabe que tanto la eucromatina como la heterocromatina están compuestas por mezclas de estructuras cromatínicas diferentes, cada una establecida y mantenida por conjuntos diferentes de modificaciones de colas histónicas que atraen conjuntos distintos de proteínas no histonas (Fig. 5-31).

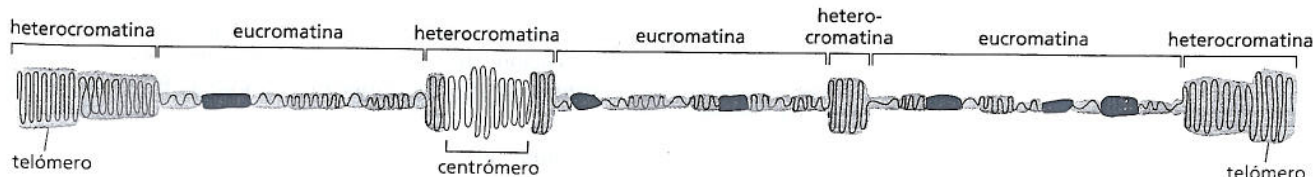
PREGUNTA 5-5

Las mutaciones en un gen particular en el cromosoma X producen ceguera para los colores. Todos los varones portadores de un gen mutado están afectados. Las mujeres portadoras de un gen mutado en su mayoría tienen una visión de los colores adecuada pero ven imágenes en color con una resolución reducida, como si los conos funcionales (las células que contienen los fotorreceptores para el color) estuviesen más separados que lo normal en la retina. ¿Puede Ud. dar una explicación aceptable para esta observación? Si una mujer padece ceguera para los colores, ¿qué podría decir Ud. sobre su padre? ¿Y sobre su madre? Explique sus respuestas.

Los cambios de la estructura cromatínica pueden heredarse

Como acabamos de ver, ciertos tipos de estructura cromatínica pueden transmitirse de una célula a sus descendientes: la progenie de una célula en la cual la copia materna del cromosoma X está condensada e inactivada, por ejemplo, también condensará e inactivará su cromosoma X materno. ¿Cómo es posible esta heren-

Figura 5-31. La estructura de la cromatina varía a lo largo de un cromosoma interfásico individual. Como se indica en forma esquemática por medio de colores diferentes, tanto la heterocromatina como la eucromatina representan un conjunto de estructuras cromatínicas distintas con grados diferentes de desenrollamiento o condensación. En total, la heterocromatina está más condensada que la eucromatina.



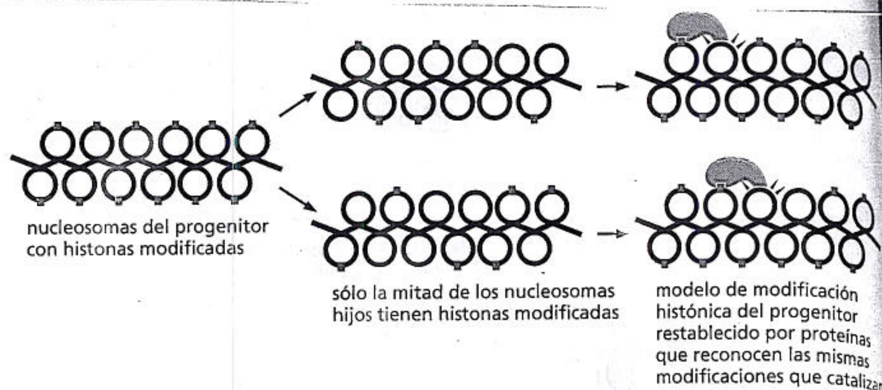


Figura 5-32. Cómo los cromosomas hijos pueden heredar las modificaciones de las histonas. Cuando un cromosoma se duplica, sus histonas residentes se distribuyen más o menos al azar en cada una de las dos hélices de DNA hijas. Así, cada cromosoma hijo heredará más o menos la mitad de la colección de histonas modificadas de su progenitor. El resto de los segmentos del DNA recibe histonas neosintetizadas todavía sin modificar. En este momento, las proteínas que reconocen una modificación particular pueden unirse a la cromatina y catalizar la formación de la misma modificación en las histonas nuevas. Esto puede restaurar el modelo de modificación del progenitor y, en última instancia, permitir la herencia de la estructura cromatínica del progenitor. Al parecer, este mecanismo es válido para algunos tipos de modificaciones histónicas pero no para todos ellos.

cia de la estructura cromatínica? Cuando una célula duplica su genoma cada hélice de DNA hija recibe la mitad de las proteínas histona de su progenitora. Con esas proteínas histonas vienen las modificaciones covalentes asociadas con el tipo de estructura cromatínica que había en cada región particular de ese cromosoma progenitor. Así, cada cromosoma hijo al principio contendrá un conjunto entremezclado de dos tipos de nucleosomas: los que contienen las histonas modificadas heredadas de su cromosoma progenitor y los que contienen histonas neosintetizadas, que aún no se han modificado. En este momento, proteínas que reconocen las histonas modificadas pueden unirse a las histonas del progenitor y causar el mismo tipo de modificación en las histonas vírgenes contiguas, lo cual restablece el modelo de estructura cromatínica hallado en el progenitor (Fig. 5-32).

La capacidad de heredar la estructura cromatínica localizada contribuye a que las células eucarióticas "recuerden" si un gen estaba activo en su célula progenitora, un proceso al parecer decisivo para el establecimiento y el mantenimiento de tipos celulares, tejidos y órganos diferentes durante el desarrollo y el crecimiento de un organismo multicelular complejo. Este tipo de herencia no comprende la transmisión de secuencias de DNA específicas de una generación celular a la siguiente, sino que en cambio depende del traspaso de proteínas histonas modificadas en forma específica. Es un ejemplo de **herencia epigenética** (del gr. *epi*, "sobre"), porque se superpone a la herencia genética con fundamento en el DNA. En el capítulo 8 se comentan otras formas de herencia epigenética.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La vida depende del almacenamiento estable y compacto de la información genética.
- La información genética es transportada por moléculas de DNA muy largas y codificada en la secuencia lineal de nucleótidos A, T, G y C.
- Cada molécula de DNA es una doble hélice compuesta por un par de cadenas de nucleótidos complementarias mantenidas juntas por enlaces de hidrógeno entre los pares de bases G-C y A-T.
- Una cadena de DNA tiene una polaridad química debido al enlace alternante de pentosas y fosfatos en su esqueleto. Las dos cadenas de la doble hélice del DNA son antiparalelas, es decir que tienen orientaciones opuestas.
- El material genético de una célula eucariótica está contenido en un conjunto de cromosomas, cada uno formado por una sola molécula de DNA enormemente larga que contiene muchos genes.
- Cuando se expresa un gen codificador de proteína, una parte de su secuencia de nucleótidos se copia en RNA, el cual luego dirige la síntesis de una proteína específica.
- El DNA que forma cada cromosoma eucariótico contiene, además de genes, muchos orígenes de replicación, un centrómero y dos telómeros. Estas secuencias aseguran que el cromosoma pueda duplicarse en forma eficaz y transmitirse a las células hijas.
- Los cromosomas de las células eucarióticas consisten en DNA unido con firmeza a una masa de proteínas especializadas. Estas proteínas pliegan el DNA en

una forma compacta. El complejo de DNA y proteínas en los cromosomas recibe el nombre de cromatina.

- Las proteínas cromosómicas más abundantes son las histonas, que compactan el DNA en una colección repetitiva de partículas de DNA-proteína llamadas nucleosomas.
- Los nucleosomas se aproximan entre sí, con la ayuda de moléculas de histona H1, formando una fibra de 30 nm. Esta fibra por lo general se enrolla y se pliega produciendo estructuras cromatínicas más compactas.
- Las estructura cromatínica es dinámica: mediante la descondensación temporal de su estructura con complejos de remodelación de la cromatina y enzimas que producen modificaciones covalentes de las colas de las histonas la célula puede asegurar que las proteínas que participan en la expresión génica, la duplicación y la reparación tengan un acceso localizado y rápido a las secuencias de DNA necesarias.
- Algunas formas de cromatina exhiben un modelo de modificación de las colas histónicas que hace que el DNA sufra una condensación tan grande que los genes compactados no pueden expresarse para producir RNA y proteínas.
- La estructura cromatínica puede transmitirse de una generación celular a la siguiente, lo cual produce una forma de herencia epigenética que contribuye a que una célula recuerde el estado de la expresión génica en su célula progenitora.

PALABRAS CLAVE

ácido desoxirribonucleico (DNA)
cariotipo
centrómero
ciclo celular
complejo de remodelación de la cromatina
complementario
cromatina
cromosoma
doble hélice
eucromatina
gen
genoma
herencia epigenética
heterocromatina
histona
nucléolo
nucleosoma
origen de la replicación
par de bases
telómero

PREGUNTAS

PREGUNTA 5-6

A. La secuencia de nucleótidos de una cadena de una doble hélice de DNA es

5'-GGATTTTTGTCCACAATCA-3'

¿Cuál es la secuencia de la cadena complementaria?

B. En el DNA de ciertas células bacterianas, el 13% de los nucleótidos, corresponde a adenina. ¿Cuáles son los porcentajes de los otros nucleótidos?

C. ¿Cuántas secuencias de nucleótidos posibles hay para un segmento de DNA que tiene una longitud de *N* nucleótidos, si éste es (a) monocatenario o (b) bicatenario?

D. Suponga que se dispusiese de un método para cortar el DNA en secuencias de nucleótidos específicas. ¿Cuántos nucleótidos de longitud (en promedio) tendría que tener la secuencia para realizar sólo un corte en un genoma bacteriano de 3×10^6 pares de nucleótidos? ¿Cuán diferente sería la respuesta para el genoma de una célula animal que contuviese 3×10^9 pares de nucleótidos?

PREGUNTA 5-7

Un par de bases A-T se encuentra estabilizado por solo dos enlaces de hidrógeno. Esquemas de enlaces de hidrógeno de fuerzas muy semejantes también pueden establecerse entre otras combinaciones de bases, como los pares A-C y A-G que se ilustran en la figura P5-7. ¿Qué ocurriría si estos pares se formasen durante la duplicación del DNA y se incorporaran las bases inadecuadas? Comente por qué esto no pasa con frecuencia. (Ayuda: véase la Figura 5-6)

PREGUNTA 5-8

A. Una macromolécula aislada de una fuente extraterrestre se parece superficialmente al DNA pero un análisis más detallado revela estructuras bastante diferentes en las bases (Fig. P5-8). Las bases V, W, X e Y han reemplazado las bases A, T, G y C. Examine estas estructuras con atención. ¿Podrían provenir estas moléculas similares al DNA de un organismo viviente que utiliza principios de herencia genética semejantes a los utilizados pòr las células en la Tierra? Si es así, ¿qué puede decir acerca de sus propiedades?

B. Juzgadas nada más que por su potencial para la formación de enlaces de hidrógeno, ¿podría cualquiera de estas bases extraterrestres reemplazar a la A, T, G o C terrestres en el DNA terrestre? Explique sus respuestas.

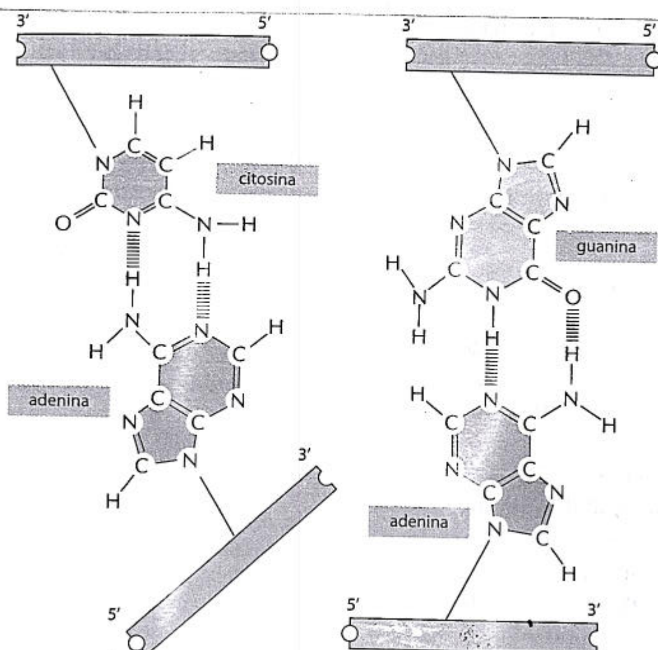


Figura P5-7

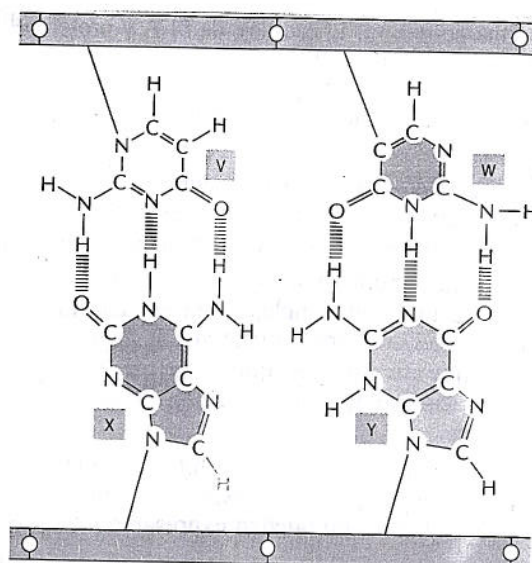


Figura P5-8

PREGUNTA 5-9

Las dos cadenas de la doble hélice del DNA pueden separarse mediante el calentamiento. Si se aumentara la temperatura de una solución que contuviese las tres moléculas de DNA siguientes, ¿en qué orden supone Ud. que se "fundirían" o desnaturalizarían? Explique su respuesta.

A. 5'-GCGGGCCAGCCCGAGTGGGTAGCCCAGG-3'

3'-CGCCCGGTCGGGCTCACCCATCGGGTCC-5'

B. 5'-ATTATAAAATATTTAGATACTATATTTACAA-3'

3'-TAATATTTTATAAATCTATGATATAAATGTT-5'

C. 5'-AGAGCTAGATCGAT-3'

3'-TCTCGATCTAGCTA-5'

PREGUNTA 5-10

La longitud total del DNA en el genoma humano es de alrededor de 1 m y el diámetro de la doble hélice es de unos 2 nm. Los nucleótidos en una doble hélice de DNA están apilados con un intervalo de 0,34 nm. Si el DNA se magnificara de modo que su diámetro fuese igual al de un cable eléctrico de extensión (5 mm), ¿qué longitud tendría el cable de extensión de un extremo al otro (suponiendo que estuviese completamente estirado)? ¿Cuán cerca estarían las bases una de otra? ¿Qué longitud tendría un gen de 1.000 pares de nucleótidos?

PREGUNTA 5-11

Un disco compacto (CD) almacena más o menos $4,8 \times 10^9$ bits de información en una superficie de 96 cm^2. Esta información se almacena en la forma de un código binario, es decir que cada bit es un 0 o un 1.

A. ¿Cuántos bits harían falta para especificar cada par de nucleótidos en una secuencia de DNA?

B. ¿Cuántos CD se necesitarían para almacenar la información contenida en el genoma humano?

PREGUNTA 5-12

¿Cuáles de las afirmaciones siguientes son correctas? Explique sus respuestas

A. Cada cromosoma eucariótico debe contener los siguientes elementos en la secuencia del DNA: orígenes de replicación múltiples, dos telómeros y un centrómero.

B. Las partículas centrales de los nucleosomas tienen 30 nm de diámetro y cuando se alinean forman filamentos de 30 nm.

PREGUNTA 5-13

Defina los términos siguientes y sus relaciones entre sí:

A. Cromosoma interfásico

B. Cromosoma mitótico

C. Cromatina

D. Heterocromatina

E. Histonas

F. Nucleosoma

PREGUNTA 5-14

Considere con detenimiento el resultado que se ilustra en la figura P5-14. Cada una de las dos colonias que se muestran es un macizo de alrededor de 100.000 células de levadura que ha proliferado a partir de una sola célula que ahora está en algún lugar en el medio de la colonia. El gen *Ade2* de levadura codifica una de las enzimas de la biosíntesis de la adenina y la falta del producto de *Ade2* conduce a la acumulación de un pigmento rojo. En su ubicación cromosómica normal *Ade2* se expresa en todas las células. Cuando se ubica cerca del telómero, que está muy condensado, *Ade2* ya no se expresa. Explique por qué los sectores blancos se han formado cerca del borde de la colonia. Sobre la base de la existencia de estos sectores, ¿qué conclusión puede sacar Ud. acerca de la propagación del esta-

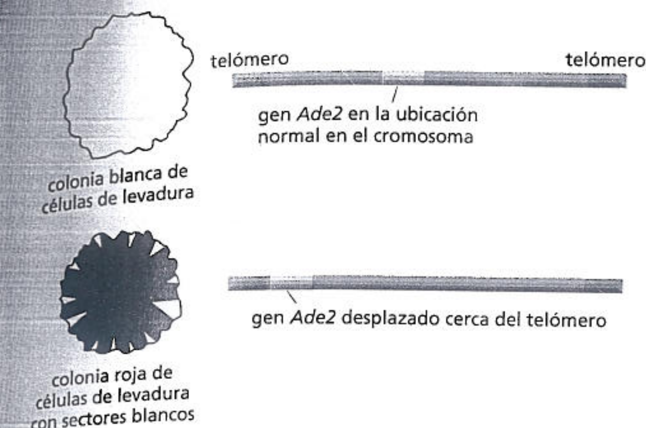
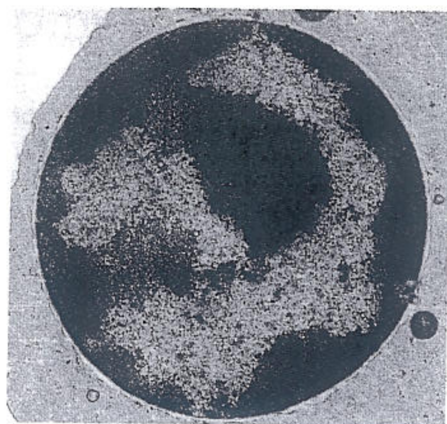


Figura **P5-14**

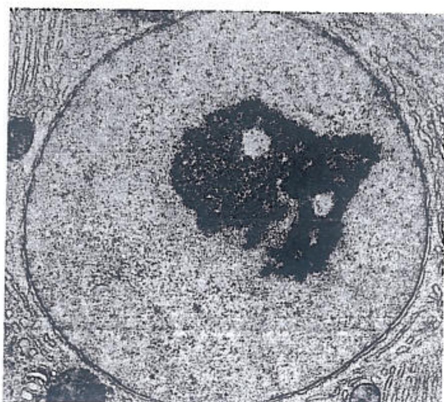
do transcripcional del gen *Ade2* desde una célula madre a sus células hijas?

PREGUNTA 5-15

Las dos microfotografías electrónicas en la figura P5-15 muestran los núcleos de dos tipos celulares diferentes. A partir de estas fotos, ¿puede Ud. decir cuál de las dos células está transcribiendo más de sus genes? Explique cómo llegó a su respuesta. (Microfotografías gentileza de Don W. Fawcett).



(A)



(B)

Figura **P5-15**



Figura **P5-16**

PREGUNTA 5-16

El DNA forma una hélice dextrógira. Escoja la hélice dextrógira de entre las que se ilustran en la figura P5-16.

PREGUNTA 5-17

Un nucleosoma individual mide 11 nm de diámetro y contiene 147 pb de DNA (la doble hélice de DNA mide 0,34 nm/pb). ¿Qué proporción de condensación (relación entre la longitud del DNA y el diámetro de los nucleosomas) se ha logrado al enrollar el DNA alrededor del octámero de histonas? Suponiendo que hay 53 pb adicionales de DNA extendido en el espaciador entre los nucleosomas, ¿cuán condensado está el DNA de "perlas de collar" en relación con el DNA extendido por completo? ¿Qué fracción de la condensación (equivalente a 10.000 veces) que ocurre en la mitosis representa este primer nivel de compactación?

PREGUNTA 5-18

Se cree que la herencia epigenética de la estructura cromatínica cumple una función importante en la especificación de los tipos celulares diferentes en los organismos vertebrados. ¿Por qué sería este mecanismo de herencia célula a célula preferible a un mecanismo hipotético que alterara la secuencia del DNA en sitios específicos en células selectas durante el desarrollo embrionario?

CA

F p
y r

La capa
de l
da en s
debe o
id
vision
compu
ge
teicas
alguno
cél

A pesa
de copi
mu
forma
estos c
de
para m
de año
dis a
produc
los ind
hu

Sin em
sable
tan
su DNA
contr

CAPÍTULO SEIS

6

Replicación, reparación, y recombinación del DNA

La capacidad de una célula para mantener el orden en un ambiente caótico depende de la duplicación precisa de la gran cantidad de información genética codificada en su DNA. Este proceso de duplicación, que se denomina *replicación del DNA*, debe ocurrir antes de que una célula produzca dos células hijas genéticamente idénticas. El mantenimiento del orden en una célula también requiere de la supervisión y la reparación de su información genética, cuando el DNA es dañado por compuestos químicos, la radiación del ambiente y por moléculas reactivas que se generan dentro de la célula. En este capítulo, se describirán las maquinarias proteicas que replican y reparan el DNA de la célula. Estas maquinarias catalizan algunos de los procesos más rápidos y precisos que tienen lugar dentro de las células, y sus acciones reflejan la virtuosidad y la eficiencia de la química celular.

A pesar de estos sistemas que protegen las instrucciones genéticas de los errores de copiado y del daño accidental, a veces se producen cambios permanentes o *mutaciones*. Aunque muchas de las mutaciones no afectan al organismo de una forma notable, algunas pueden tener consecuencias profundas. Ocasionalmente, estos cambios pueden beneficiar al organismo: por ejemplo, las mutaciones pueden hacer que una bacteria se torne resistente a los antibióticos que se utilizan para matarlas. En efecto, la acumulación de cambios en el DNA durante millones de años proporcionó la variedad en el material genético que hace a una especie distinta de las otras, como se explicará en el capítulo 9. Las mutaciones también producen las variaciones más pequeñas en las que subyacen las diferencias entre los individuos de la misma especie que se pueden ver fácilmente en los seres humanos y los animales (Fig. 6-1).

Sin embargo, las mutaciones pueden ser perjudiciales: en el hombre son responsables de miles de enfermedades hereditarias y de muchos tipos de cáncer. Por lo tanto, la supervivencia de una célula u organismo depende de que los cambios en su DNA se mantengan al mínimo. Sin los sistemas celulares que continuamente controlan y reparan el DNA dañado, es cuestionable que pueda existir la vida.



Figura 6-1. La información hereditaria es transmitida con exactitud de una generación a la siguiente. Las diferencias en el DNA, sin embargo, pueden producir las variaciones que constituyen la base de las diferencias entre los individuos de la misma especie o, con el transcurso del tiempo, entre una especie y otra. En esta fotografía familiar, los niños se asemejan uno al otro y a sus padres más estrechamente de lo que se parecen a otras personas porque heredan sus genes particulares de los progenitores. El gato comparte muchas características con los seres humanos, pero durante los millones de años de evolución que han separado a los hombres de los gatos, se han acumulado muchos cambios hereditarios que ahora nos transforman en especies bastante diferentes. La gallina es un pariente aún más lejano.

En este capítulo se comenzará con una revisión de los mecanismos celulares responsables de copiar y mantener el DNA con cambios mínimos. Después se considerarán algunos de los modos fascinantes mediante los cuales se puede alterar la información genética, como la *recombinación homóloga* y el movimiento especial de las secuencias de DNA en nuestros cromosomas que se denominan *elementos genéticos móviles*. Finalmente se considerarán a los virus –algo más que genes protegidos por una cubierta proteica– que pueden moverse de una célula a otra.

REPLICACIÓN DEL DNA

En cada división celular, una célula debe copiar su genoma con extraordinaria precisión. En esta sección se describirá cómo la célula realiza esta meticulosa tarea, mientras duplica el DNA a velocidades tan altas como de 1.000 nucleótidos por segundo.

El apareamiento de bases permite la replicación del DNA

En el capítulo anterior se describió que cada cadena de la doble hélice de DNA contiene una secuencia de nucleótidos que es exactamente complementaria a la secuencia de nucleótidos de la otra cadena. Cada cadena puede actuar de esta forma como un **molde**, para la síntesis de una nueva cadena complementaria (Fig. 6-2). En otras palabras, si se designan a las dos cadenas del DNA como S y S´, la cadena S puede actuar como un molde para la formación de una nueva cadena S´, mientras que la cadena S´ puede actuar como un molde para una nueva cadena S (Fig. 6-3). Por lo tanto, la información genética en el DNA puede ser copiada con precisión por un proceso maravillosamente simple donde la cadena S se separa de

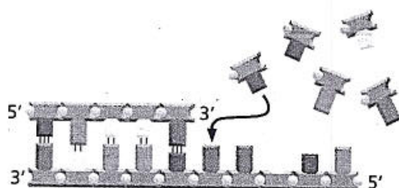


Figura 6-2. Una cadena de DNA puede actuar como molde. La unión preferencial que ocurre entre los pares de nucleótidos (A con T, y G con C) puede formar pares de bases. Esto le permite a cada cadena actuar como un molde para formar su cadena complementaria.

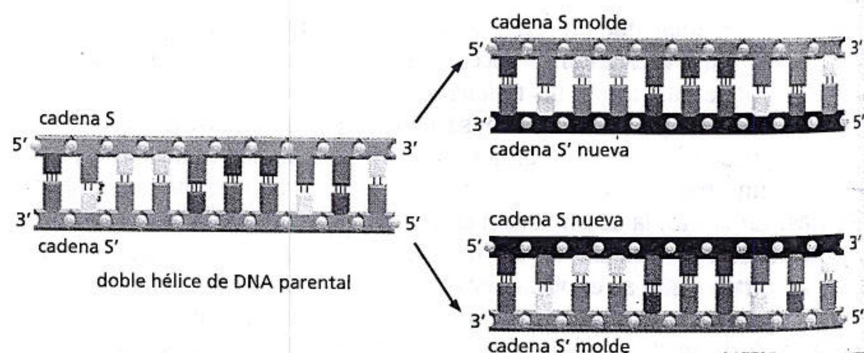


Figura 6-3. El DNA actúa como un molde para su propia duplicación. Como el nucleótido A se apareará solamente con T, y G con C, cada cadena de DNA en la doble hélice, marcada aquí como la cadena S y su cadena complementaria S´, puede actuar como un molde para especificar la secuencia de nucleótidos en su cadena complementaria, la doble hélice. En este sentido, el DNA puede ser copiado con precisión. Téngase en cuenta que, aun cuando aquí están coloreadas de modo diferente, la cadena molde (*anaranjado*) y las cadenas nuevas (*rojo*) son químicamente idénticas.

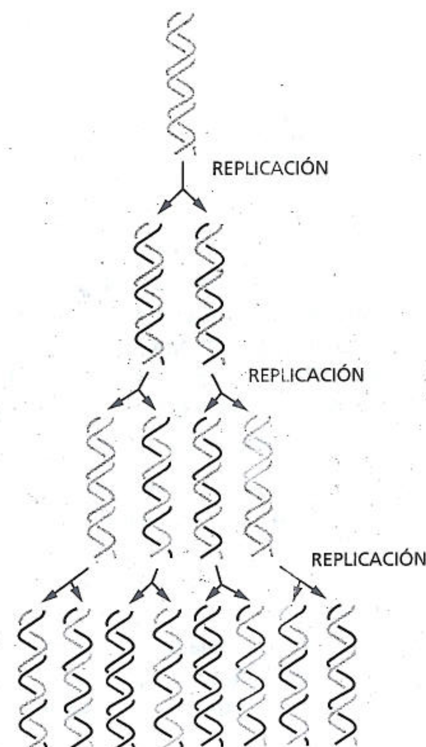


Figura 6-4. En cada ronda de replicación, cada una de las cadenas de DNA se usa como molde para la formación de una cadena de DNA complementaria. Así, las cadenas originales permanecen intactas durante varias generaciones. La replicación del DNA es "semiconservadora" porque cada doble hélice hija de DNA está compuesta por una cadena que se conserva y una cadena recién sintetizada.

la cadena S´, y cada cadena actúa luego como un molde para la producción de una nueva cadena que es idéntica a la anterior.

La capacidad de cada cadena de una molécula de DNA de actuar como un molde para producir una cadena complementaria le permite a una célula copiar, o *replicar*, sus genes antes de pasarlos a sus descendientes. Pero la tarea es imponente, ya que puede implicar la copia de miles de millones de pares de nucleótidos cada vez que la célula se divide. El copiado debe realizarse con velocidad y precisión: en alrededor de 8 horas, una célula animal en división copiará el equivalente de 1.000 libros como éste y, en promedio, se equivocará en una o dos letras solamente. Esta proeza es realizada por una agrupación de proteínas que forman una *máquina de replicación.*

La **replicación** del **DNA** produce dos dobles hélices completas a partir de la molécula de DNA original y cada hélice nueva es idéntica (excepto por errores infrecuentes) en la secuencia de nucleótidos a la doble hélice de DNA progenitora (véase Fig. 6-3). Como cada cadena progenitora actúa como un molde para una cadena nueva, cada una de las dobles hélices de DNA hijas contendrá una de las cadenas originales (antigua) más una cadena que es completamente nueva; este estilo de replicación se llama *semiconservadora* (Fig. 6-4). En Biología experimental, pp. 200, se analizarán los experimentos que por primera vez demostraron que el DNA se replica de esta forma.

La síntesis del DNA comienza en los orígenes de replicación

La doble hélice de DNA es muy estable: las dos cadenas están aseguradas firmemente entre sí por un gran número de enlaces de hidrógeno entre las bases de ambas cadenas (véase Fig. 5-2). Como resultado, solo las temperaturas que se aproximan a las de ebullición del agua proporcionan suficiente energía térmica como para separarlas. Sin embargo, para ser utilizada como un molde, la doble hélice primero debe ser abierta y las dos cadenas deben ser separadas de modo que exponen las bases desapareadas. ¿Cómo se produce esto a las temperaturas que existen en las células vivas?

El proceso de replicación del DNA es comenzado por proteínas iniciadoras que se unen al DNA y separara a las dos cadenas, rompiendo los enlaces de hidrógeno entre las bases (Fig. 6-5). Aunque los enlaces de hidrógeno en conjunto hacen que la hélice de DNA sea muy estable, en forma individual cada enlace es débil (véase capítulo. 2). La separación de un corto tramo de DNA con pocos pares de bases por vez no requiere una gran cantidad de energía y se puede producir con la ayuda de estas proteínas, a las temperaturas normales.

Las posiciones en las que el DNA se abre primero se denominan **orígenes de replicación** y, en general, están marcadas por una secuencia particular de nucleótidos. En las células simples como las bacterias olas levaduras, los orígenes de replicación abarcan unos 100 pares de bases y están compuestos por secuencias de DNA que atraen a las proteínas iniciadoras, y extienden al DNA que es especialmente fácil de abrir. En el capítulo 5 se describió que un par de bases A–T se mantiene unido por menos enlaces de hidrógeno que el par de bases G–C. Por consiguiente, el DNA rico en pares de bases A–T es relativamente fácil de separar, y los tramos DNA ricos en A–T suelen encontrarse en los orígenes de la replicación.

Un genoma bacteriano, que posee la característica de estar contenido en una molécula de DNA circular de varios millones de pares de nucleótidos, tiene sólo un origen de replicación.

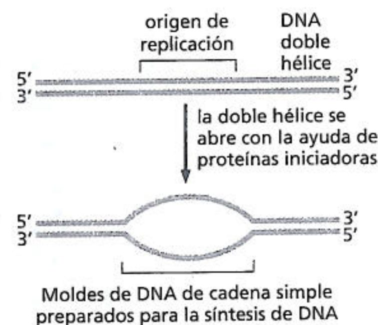


Figura 6-5. Una doble hélice de DNA es abierta en su origen de replicación. Las proteínas iniciadoras de la replicación reconocen secuencias de DNA en los orígenes de replicación y separan las dos cadenas de la doble hélice. Las cadenas simples expuestas pueden actuar como molde para el copiado de DNA.

LA NATURALEZA DE LA REPLICACIÓN

En 1953, James Watson y Francis Crick publicaron su famoso artículo de dos páginas describiendo un modelo para la estructura del DNA (véase Fig. 5-2). En su artículo, propusieron que las bases complementarias, adenina y timina, guanina y citosina, se aparean unas con otras a lo largo del centro de una doble hélice, manteniendo juntas a las dos cadenas de DNA. Al final de este sucinto éxito editorial, los investigadores comentan, casi al margen, "No se nos pasó inadvertido el hecho de que el apareamiento específico que hemos postulado sugiere inmediatamente un posible mecanismo de copiado para el material genético."

Efectivamente, un mes después de que la publicación clásica apareció en la revista *Nature*, Watson y Crick publicaron un segundo artículo, sugiriendo cómo el DNA podría ser duplicado. En este artículo, propusieron que las dos cadenas de la doble hélice se desenrollan, y cada una sirve como un molde para la síntesis de una cadena hija complementaria. En su modelo, que denominaron replicación *semiconservadora*, cada molécula de DNA nueva consiste en una cadena derivada de la molécula parental original y una cadena nueva recién sintetizada (Fig. 6-6A).

En la actualidad se sabe que el modelo de Watson y Crick para la replicación del DNA era el correcto, pero al principio no fue aceptado de manera universal. Por ejemplo, el físico devenido en genetista, Max Delbrück, complicó las cosas con lo que él denomino "el problema de desenroscado"; es decir: ¿cómo podrían las dos cadenas de una doble hélice, enrollada una alrededor de la otra tantas veces a lo largo de su extensa longitud, posibilitar el desenrollado sin producir un enredado más grande? La concepción de Watson y Crick acerca de la apertura de la hélice de DNA en esquema similar a una cremallera, para Delbrück, era físicamente improbable y simplemente "demasiado deslucido para ser eficiente".

En efecto, Delbrück propuso que la replicación del DNA procedía a través de una serie de roturas y reuniones, en las que el eje de DNA se rompía y que las cadenas eran copiadas en segmentos cortos, tal vez de solo 10 nucleótidos por vez, antes de volver a ser unidas. En este modelo, que después se denominó *dispersivo*, las copias resultantes serían colecciones de parches de DNA antiguo y nuevo, cada cadena conteniendo una mezcla de ambas (Fig. 6-6B). No era necesario el desenrollado.

Incluso un tercer campo promovió la idea de que la replicación podría ser *conservadora*: que la hélice parental podría de alguna manera permanecer entera después del copiado, y que la molécula hija contendría dos cadenas de DNA completamente nuevas (Fig. 6-6C). Para determinar cual de estos modelos era el correcto, fue necesario un experimento que pudiera revelar la composición de las cadenas de DNA recién sintetizadas. Esto es lo que Matt Meselson y Frank Stahl hicieron.

Cuando era un estudiante recién graduado que trabajaba con Linus Pauling, Meselson se entretenía con un método para establecer las diferencias entre las proteínas antiguas y nuevas. Después de charlar con Delbrück acerca del modelo de replicación de Watson y Crick, a Meselson se le ocurrió que el enfoque que había concebido mentalmente para explorar la síntesis de proteínas también podría funcionar para el estudio del DNA. En el verano de 1954, Meselson se encontró con Stahl, quien después fue un estudiante graduado de Rochester, NY, y acordó colaborar. Les llevó unos años que todo funcionara, pero los dos

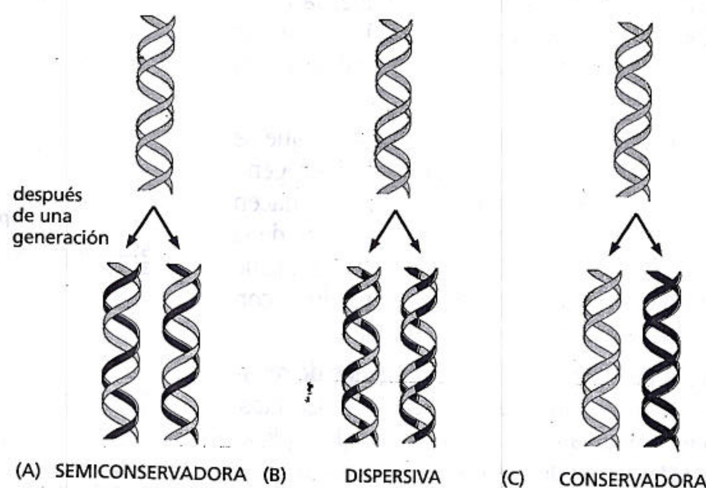


Figura 6–6. Tres modelos para la replicación del DNA plantean diferentes predicciones. (A) En el modelo semiconservador, cada cadena parental actúa como molde para la síntesis de una cadena hija. El primer ciclo de replicación produciría dos moléculas híbridas, que contiene, cada una, una cadena parental original además de una cadena nueva recién sintetizada. Un ciclo de replicación subsecuente produciría dos moléculas híbridas y dos moléculas que no contienen DNA parental original. (B) En el modelo dispersivo, cada generación de DNA hija contendrá una mezcla de fragmentos de las cadenas parentales junto a material nuevo sintetizado. (C) En el modelo conservador, la molécula parental permanece intacta después de ser copiada. En este caso, el primer ciclo de replicación produciría la hélice parental original junto con una molécula hija completamente nueva. Para cada modelo, las moléculas de DNA parental se muestran en naranja; el DNA nuevo sintetizado es rojo. Nótese que para cada modelo sólo se muestra una porción muy pequeña del DNA.

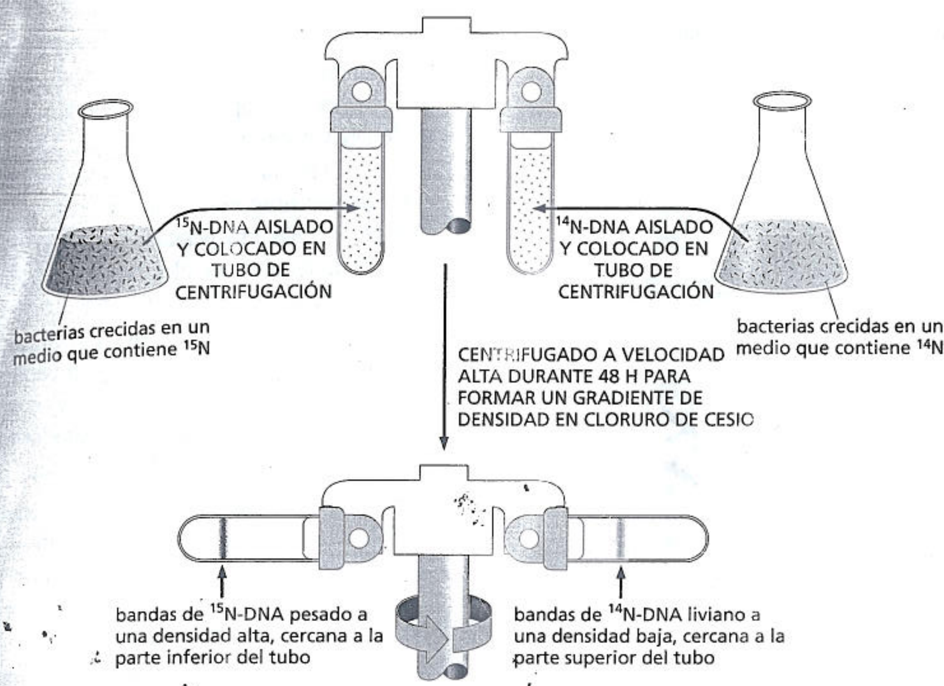


Figura 6-7. La centrifugación en gradiente de cloruro de cesio permite la separación de DNA pesado y liviano. Se hacen crecer bacterias durante varias generaciones en un medio que contiene ^{15}N (el isótopo pesado) o ^{14}N (el isótopo liviano) para marcar su DNA. Después se lisan las células y se coloca el DNA dentro de un tubo para ultracentrífuga que contiene solución salina de cloruro de cesio. Estos tubos se centrifugan a alta velocidad durante dos días para que el DNA sea recolectado en la región donde su densidad coincida con la densidad de la sal que lo rodea. Las moléculas de DNA pesadas y livianas se recolectan en diferentes posiciones en el tubo.

eventualmente realizaron lo que se denominó "el experimento más precioso en la biología."

La técnica, en retrospectiva, fue sorprendentemente directa. Ellos comenzaron haciendo crecer dos lotes de bacterias de *E. coli*, una en un medio que contenía un isótopo pesado de nitrógeno, ^{15}N; la otra, en un medio que contenía el nitrógeno liviano normal, ^{14}N. El nitrógeno en el medio nutriente se incorporaba en las bases nucleotídicas y, a partir de allí, hacía su camino dentro del DNA del organismo. Después de hacer crecer los cultivos de células durante muchas generaciones en el medio que contenía ^{15}N– o ^{14}N– , los investigadores obtuvieron dos recipientes con bacterias, uno cuyo DNA era *pesado*, el otro cuyo DNA era *liviano*. Meselson y Stahl luego lisaron las células bacterianas y colocaron el DNA en tubos que contenían altas concentraciones de sal cloruro de cesio. Al centrifugar estos tubos, el cloruro de cesio forma un gradiente de densidad, y las moléculas de DNA flotan en la solución hasta que alcanzan el punto en el cual sus densidades igualan a la de la sal del medio (véase Lámina 4-4, pp. 164). Con este método, denominado centrifugación en gradiente de densidad, Meselson y Stahl encontraron que podían distinguir entre DNA pesado (que contiene ^{15}N–) y DNA liviano (que contiene ^{14}N–) al observar las posiciones del DNA dentro del gradiente de cloruro de cesio. Debido a que el DNA pesado era más denso que el DNA liviano, lo recolectaron a una posición más cercana a la parte inferior del tubo de centrifugación (Fig. 6-7).

Una vez que establecieron este método para diferenciar entre el DNA pesado y liviano, Meselson y Stahl probaron las diferentes hipótesis propuestas para la replicación del DNA. Para realizar esto, tomaron un recipiente de bacterias que habían crecido en nitrógeno pesado y transfirieron el cultivo a un medio que contenía el isótopo liviano. Al comienzo del experimento, todo el DNA debía ser pesado, pero a medida que las bacterias se dividían, el DNA recién sintetizado podría ser liviano. Pudieron monitorizar la acumulación de DNA liviano y ver cual modelo, si es que era alguno de estos, se ajustaba mejor a los datos. Después de una generación de crecimiento, los investigadores encontraron que las moléculas de DNA pesadas progenitoras, con dos cadenas que contenían ^{15}N, habían desaparecido y fueron reemplazadas por una especie nueva de DNA que formaba una banda en la densidad a mitad de camino entre las densidades del ^{15}N–DNA y del ^{14}N–DNA (Fig. 6-8). Estas hélices hijas recién sintetizadas, razonaron Meselson y Stahl, deben ser un híbrido, que contiene isótopos pesados y livianos.

Esta observación descartó el modelo conservador de replicación del DNA, que predecía que el DNA parental permanecería completamente pesado, mientras que el DNA hijo sería 100% liviano (véase Fig. 6-6C). Los datos coincidían con el modelo semiconservador, que predijo la formación de moléculas híbridas que contenían una cadena de DNA pesado y una cadena de DNA liviano (véase Fig. 6-6A). Los resultados, sin embargo, también eran consistentes con el modelo dispersivo, en el que las moléculas híbridas podrían contener una mezcla de DNA pesado y liviano (véase Fig. 6-6B).

Para distinguir entre estos dos últimos modelos, Meselson y Stahl, probaron con el calor. Cuando el DNA es sometido a tem-

peraturas altas, los enlaces de hidrógeno que mantienen las dos cadenas juntas se rompen y las hélices se separan, dejando un conjunto de DNA cadena simple. Cuando los investigadores calentaron sus moléculas híbridas antes de centrifugarlas, descubrieron que una cadena de DNA era pesada, mientras que la otra era liviana. Esta observación avaló de manera adicional al modelo semiconservador; si el modelo dispersivo fuese correcto, las cadenas resultantes, que contenían cada una un ensamblado moteado de fragmentos pesados y livianos, se hubiesen depositado todas juntas a la misma densidad intermedia.

De acuerdo con historiador Frederic Lawrence Holmes, el experimento fue tan sutil y los resultados tan claros que Stahl, cuando fue entrevistado para obtener un cargo en la Universidad de Yale, fue incapaz de llenar los 50 minutos asignados para su discurso. "Terminé en 25 minutos," dijo Stahl, "porque esto es todo lo que toma contarles el experimento. Es demasiado simple y completo." Stahl no obtuvo el trabajo en Yale, pero el experimento convenció a los biólogos de que Watson y Crick estaban en lo cierto. De hecho, los resultados fueron aceptados tan amplia y rápidamente que el experimento fue descrito en un libro de texto antes de que Meselson y Stahl incluso publicaran la información.

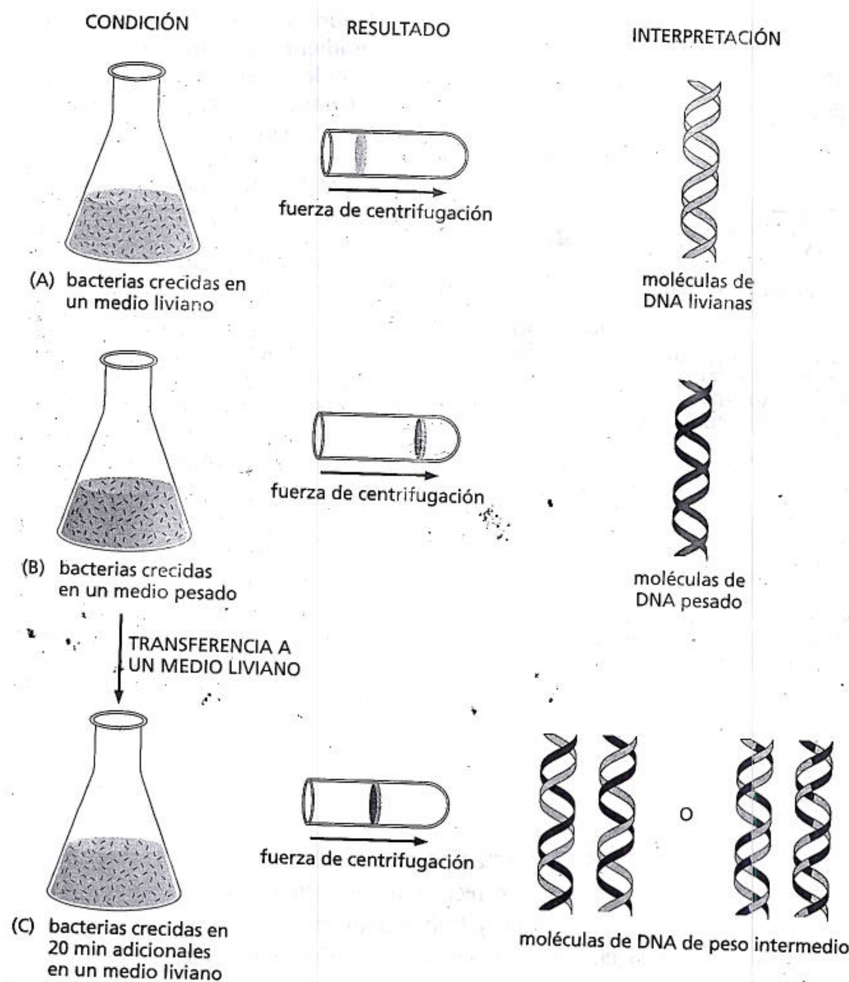


Figura 6-8. La primera parte del experimento de Meselson-Stahl descartó el modelo conservador de replicación del DNA. (A) Las bacterias que se hicieron crecer en un medio liviano que contiene ^{14}N producen DNA que se posiciona más alto en el tubo de centrifugación, mientras que las bacterias que se hicieron crecer en un medio pesado que contiene (B) produce DNA que migra más hacia la parte inferior en el tubo. Cuando las bacterias que crecen en un medio pesado se transfieren a un medio liviano y se permite que continúen dividiéndose, producen una banda cuya posición se encuentra entre la de las bandas parentales (C). Estos resultados descartan el modelo conservador de la replicación pero no distingue entre los modelos semiconservador y dispersivo, ambos predicen la formación de moléculas híbridas de DNA hijas.

El hecho de que los resultados provengan de la observación tan clara, con bandas discretas que se forman en las posiciones esperadas para las moléculas híbridas de DNA recién replicado, fue un accidente feliz del protocolo experimental. Los investigadores utilizaron una jeringa hipodérmica para colocar las muestras de DNA dentro de los tubos de centrifugación (véase Fig. 6-7). En el proceso ellos cortaron, sin darse cuenta, los cromosomas bacterianos grandes en fragmentos más pequeños. Si los cromosomas hubiesen permanecido enteros, los investigadores habrían aislado moléculas de DNA que solo fueron replicadas parcialmente, debido a que muchas células fueron capturadas a la mitad de su copiado de DNA. Las moléculas en la etapa intermedia de replicación no se hubiesen separado en esas bandas discretas. Debido a que los investigadores en lugar de esto trabajaron con piezas pequeñas, la probabilidad de que cualquier fragmento dado se hubiese replicado completamente y además, contenga una cadena parental y otra hija, era alta, de esta forma los resultados fueron claros y contundentes.

El genoma humano, que es mucho más grande, tiene aproximadamente 10.000 orígenes. En el hombre, la replicación del DNA comienza en muchos lugares a la vez y permite que una célula replique su DNA con relativa rapidez.

Una vez que una proteína iniciadora se une al DNA en el origen de replicación y abre localmente la doble hélice, atrae a un grupo de proteínas que llevan a cabo la replicación del DNA. Estas proteínas forman una maquinaria proteica, en la que cada miembro realiza una función específica. Se comentará cada una de estas proteínas en forma breve, después de considerar un panorama general de la replicación del DNA.

La síntesis de DNA nuevo se produce en las horquillas de replicación

Las moléculas de DNA en el proceso de ser replicadas contienen uniones con forma de Y que se denominadas **horquillas de replicación** (Fig. 6-9). En estas horquillas, la maquinaria de replicación se mueve a lo largo del DNA, abre las dos cadenas de la hélice y utiliza cada cadena como un molde para producir una cadena hija nueva. Se forman dos horquillas de replicación a partir de cada origen de replicación, y se moverán desde el origen en direcciones opuestas, descomprimiendo el DNA a medida que avanzan. Por lo tanto, la replicación del DNA en los cromosomas bacterianos y eucariontes se dice que es *bidireccional*. Las horquillas se mueven muy rápidamente, alrededor de 1.000 pares de nucleótidos por segundo en las bacterias y de 100 pares de nucleótidos por segundo en el hombre. La velocidad más lenta del movimiento de la horquilla en los seres humanos –en realidad, en todos los eucariontes– puede deberse a las dificultades en la replicación del DNA a través de la estructura de la cromatina más compleja en estos organismos superiores.

En el corazón de la maquinaria de replicación se encuentra una enzima que se denomina **DNA polimerasa**, que sintetiza DNA nuevo utilizando una de las cadenas antiguas como un molde. Esta enzima cataliza la adición de nucleótidos al extremo 3´ de la cadena de DNA en crecimiento mediante la formación de un enlace fosfodiéster entre ese extremo y el grupo fosfato 5´ del nucleótido entrante (Fig. 6-10). Los nucleótidos ingresan en la reacción inicialmente como nucleósidos trifosfatos, que proporcionan la energía para la polimerización. La hidrólisis de un

PREGUNTA 6-1

Mire cuidadosamente la microfotografía en la figura 6-9. Utilizando la escala de 0,1 µm, estime las longitudes de las cadenas de DNA entre las horquillas de replicación. Numere las horquillas de replicación de manera secuencial desde la izquierda, ¿cuán largo serán hasta las horquillas 4 y 5, y 6 y 7? (Recuerde que la distancia entre las bases en el DNA es de 0,34 nm, y cada horquilla de replicación eucarionte se mueve a una velocidad de alrededor de 100 nucleótidos por segundo.) Por esta cuestión no considere los nucleosomas que se ven en la microfotografía y asuma que el DNA se encuentra totalmente extendido.

B. El genoma de la mosca es de alrededor de $1,8 \times 10^8$ pares de nucleótidos en tamaño. ¿Qué fracción del genoma se muestra en la microfotografía?

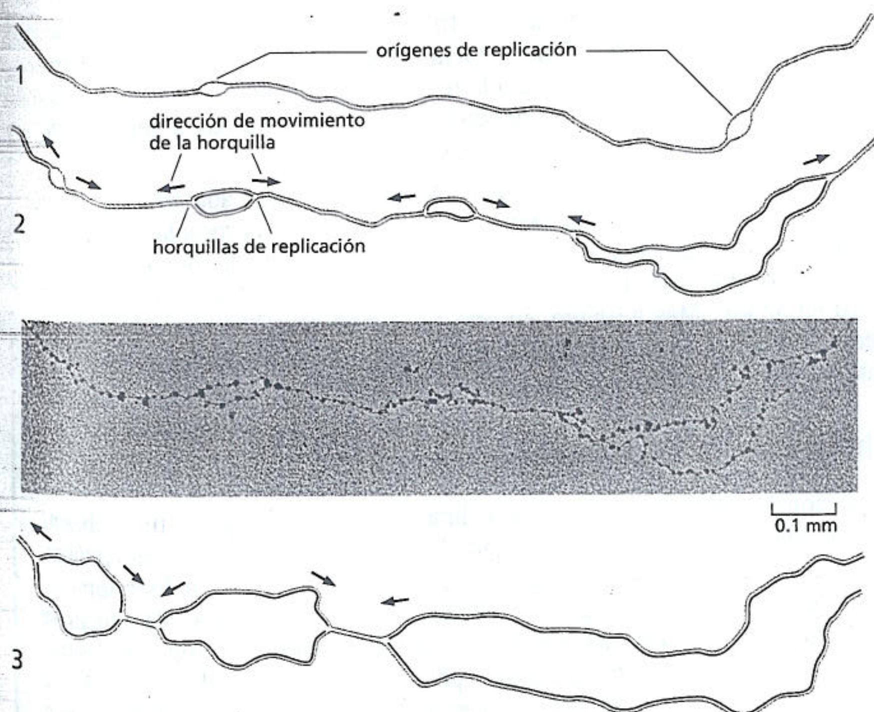


Figura 6-9. Las horquillas de replicación se alejan en direcciones opuestas desde múltiples orígenes de replicación en un cromosoma eucarionte. La microfotografía electrónica muestra al DNA que se está replicando en el embrión temprano de una mosca. Las partículas visibles a lo largo del DNA son los nucleosomas, estructuras constituidas por DNA y complejos proteicos alrededor de los cuales se enrolla el DNA (véase Cap. 5). (1), (2), y (3) son dibujos del mismo segmento de una molécula de DNA, como podría aparecer en las etapas sucesivas de la replicación, reproducidos a partir de una microfotografía electrónica. (2) Es un esquema de la microfotografía que aquí se muestra. Las *líneas naranjas* corresponden a la cadena de DNA progenitora y las *líneas rojas* al DNA recién sintetizado. (Microfotografía electrónica cortesía de Victoria Foe).

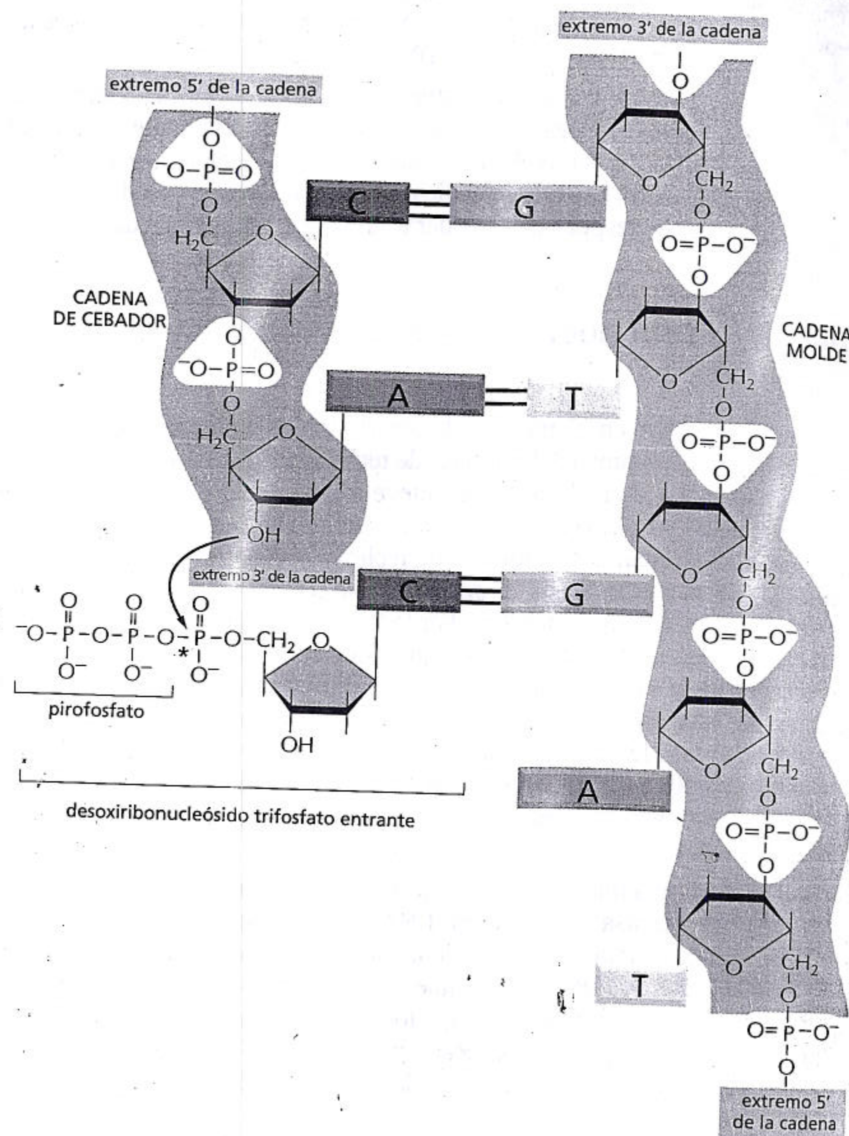


Figura 6-10. El DNA se sintetiza en la dirección 5′ a 3′. El agregado de un desoxirribonucleótido al extremo 3′ hidroxilo de una cadena polinucleotídica es la reacción fundamental por la cual se sintetiza el DNA; la cadena de DNA nueva se sintetiza por lo tanto en la dirección 5′ a 3′. El nucleótido entra a la reacción como nucleósido trifosfato. El apareamiento de bases entre el desoxirribonucleótido y la cadena molde guía la formación de una nueva cadena de DNA complementaria en la secuencia de nucleótidos con la cadena molde (véase Fig. 6-2). La enzima DNA polimerasa cataliza la adición de nucleótidos al hidroxilo 3′ libre en la cadena de DNA en crecimiento. La rotura de un enlace fosfoanhidrido (indicado por el *asterisco*) en los nucleósidos trifosfato entrantes liberan gran cantidad de energía y, por lo tanto, proporciona la energía para la reacción de polimerización.

enlace de alta energía en el nucleósido trifosfato impulsa la reacción que une al monómero nucleótido a la cadena y libera pirofosfato (PPi). La DNA polimerasa acopla la liberación de esta energía a la reacción de polimerización. El pirofosfato es hidrolizado después en fosfato inorgánico (Pi), que torna efectivamente irreversible a la reacción de polimerización (véase Fig. 3-41).

La DNA polimerasa no se disocia del DNA cada vez que adiciona un nuevo nucleótido a la cadena en crecimiento, sino que permanece asociada con el DNA y se mueve a lo largo de la cadena molde paso a paso durante muchos ciclos de reacción de polimerización. La **película 6.1** muestra una molécula de DNA polimerasa en acción. Más adelante, en este capítulo se describirá que una proteína especial mantiene a la polimerasa adherida al DNA, a medida que añade repetidamente nucleótidos nuevos a la cadena en crecimiento.

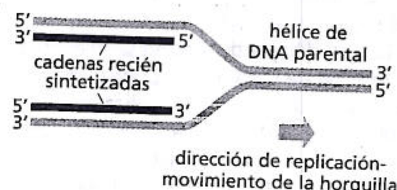


Figura 6-11. En una horquilla de replicación, las dos cadenas de DNA recién sintetizadas tienen polaridad opuesta.

La horquilla de replicación es asimétrica

La dirección 5′ a 3′ del mecanismo de polimerización del DNA posee un problema en la horquilla de replicación. En la figura 5-2 se observa que el esqueleto azúcar–fosfato de cada cadena de una doble hélice de DNA tiene una única dirección química, o polaridad, determinada por el modo en el que cada residuo de azúcar se une al siguiente, y las dos cadenas en la doble hélice corren en sentidos opuestos. Como consecuencia, en la horquilla de replicación una nueva cadena de DNA se forma sobre un molde que se encuentra en la dirección (3′ a 5′), mientras que la

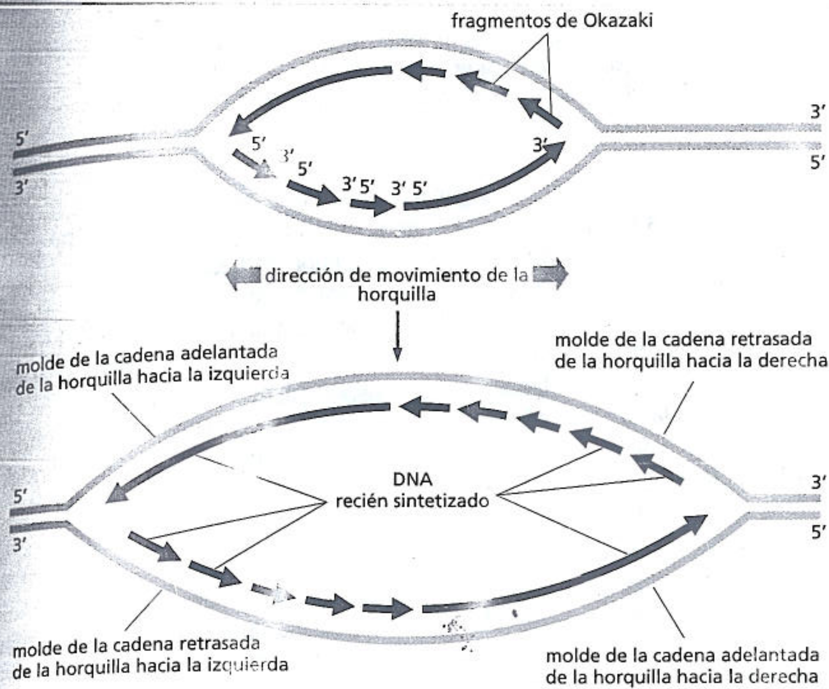


Figura 6-12. Las horquillas de replicación del DNA son asimétricas. Como ambas cadenas nuevas se sintetizan en la dirección 5'a 3', la cadena retrasada del DNA inicialmente se sintetiza como una serie de cadenas cortas de DNA que luego son unidas entre sí. El diagrama superior muestra dos horquillas de replicación que se mueven en direcciones opuestas; el diagrama inferior representa a las mismas horquillas poco tiempo después. Para sintetizar la cadena retrasada, la DNA polimerasa debe "volver hacia atrás": sintetizar fragmentos cortos (denominados fragmentos de Okazaki) en la dirección 5' a 3', y luego se debe mover en dirección opuesta a lo largo de la cadena molde (hacia la horquilla) antes de sintetizar el nuevo fragmento.

otra cadena nueva se sintetiza sobre un molde que tiene la dirección opuesta (5' a 3') (Fig. 6-11). La horquilla de replicación es, por lo tanto, asimétrica. A primera vista, ambas cadenas de DNA nuevas parecen crecer en la misma dirección, es decir, la dirección en la que se está moviendo la horquilla de replicación. Esto sugiere que una cadena se sintetizará en la dirección 3' a 5' y la otra en la dirección 5' a 3'.

Sin embargo, la DNA polimerasa puede catalizar el crecimiento de la cadena de DNA sólo en una dirección: puede añadir nuevas subunidades únicamente al extremo 3' de la cadena (véase Fig. 6-10). Como resultado, una cadena nueva de DNA puede ser sintetizada solamente en la dirección 5' a 3'. Esto explica fácilmente la síntesis de una de las dos cadenas de DNA en la horquilla de replicación, pero no la otra. Se podría esperar que un segundo tipo de DNA polimerasa sintetizara la otra cadena de DNA, una que funcionara mediante el agregado de subunidades al extremo 5' de una cadena de DNA. Sin embargo, no existe tal enzima. En lugar de ella, el problema se resuelve mediante una maniobra de "pespunte". La cadena de DNA cuyo extremo 5' debe crecer se sintetiza *de manera discontinua*, en pequeñas partes sucesivas, y la DNA polimerasa se mueve hacia atrás con respecto a la dirección de la horquilla de replicación, a medida que cada segmento nuevo es sintetizado en la dirección 5' a 3'.

Los segmentos pequeños de DNA –denominados **fragmentos de Okazaki** por el bioquímico que las descubrió– son posteriormente unidos todos juntos y forman una cadena nueva continua (Fig. 6-12). La cadena de DNA que se sintetiza de manera discontinua de este modo se denomina **cadena retrasada**; la otra cadena que se sintetiza de manera continua se denomina **cadena adelantada**.

Aunque difieren en detalles sutiles, las horquillas de replicación de todas las células, procariontes y eucariontes, tienen cadenas adelantadas y retrasadas. Esta característica común surge del hecho de que todas las DNA polimerasas trabajan sólo en la dirección 5' a 3'. A continuación se analizará una ventaja importante de este artificio molecular en apariencia complicado.

La DNA polimerasa es autocorrectora

La DNA polimerasa es tan precisa que solo comete un error cada 10^7 pares de nucleótidos que copia. La tasa de error es mucho más baja de la que puede ser explicada simplemente por la precisión del apareamiento complementario de las bases. Aunque

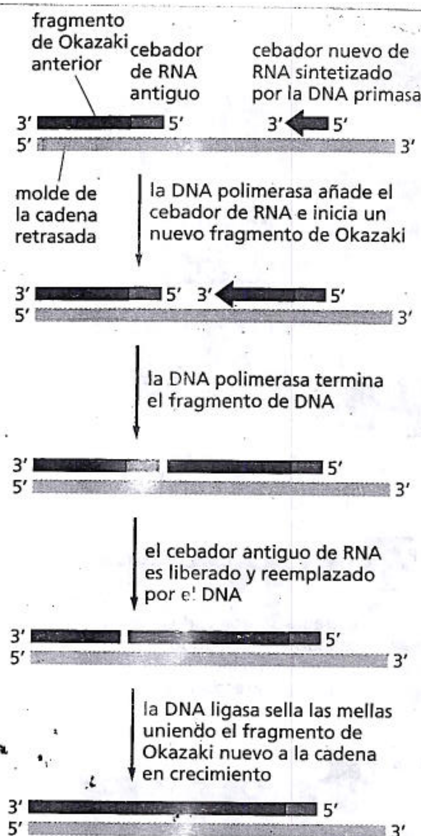


Figura 6-16. Sobre la cadena retrasada, el DNA se sintetiza en fragmentos. En los eucariontes, los cebadores de RNA se sintetizan a intervalos de 200 nucleótidos sobre la cadena retrasada, y cada cebador tiene una longitud aproximada de 10 nucleótidos. En la bacteria *E. coli*, los cebadores y los fragmentos de Okazaki son de alrededor de 5 y 1.000 nucleótidos de longitud, respectivamente. Los cebadores son eliminados por nucleasas que reconocen una cadena de RNA en una hélice RNA/DNA y lo degradan; esto deja espacios que son cubiertos por una DNA polimerasa reparadora que puede corregir á medida que llena los espacios. Los fragmentos completos son finalmente unidos por una enzima denominada ligasa, que cataliza la formación de un enlace fosfodiéster entre el extremo 3′–OH de un fragmento y el extremo 5′–P del siguiente, y une de este modo el eje de azúcar-fosfato. Esta reacción de sellado de las muescas requiere un aporte de energía en la forma de ATP o NADH.

Lámina 2-6, pp.76-77). Sin embargo, como U puede formar un par de bases con A, el cebador de RNA es sintetizado en la cadena de DNA por apareamiento de bases complementarias exactamente del mismo modo que el DNA.

Para la cadena adelantada, se necesita solamente un cebador de RNA para comenzar la replicación en el origen de replicación; una vez que la horquilla de replicación ha sido establecida, la DNA polimerasa es presentada de manera continua con un extremo 3′ apareado a medida que avanza a lo largo de la cadena molde. En cambio, en la cadena retrasada, donde la síntesis de DNA es discontinua, se necesitan continuamente cebadores nuevos, como se aprecia en la figura 6-12. Cuando el movimiento de la horquilla de replicación expone un nuevo tramo de bases desapareadas, se forma un cebador de RNA nuevo a intervalos a lo largo de la cadena retrasada. La DNA polimerasa agrega un desoxirribonucleótido al extremo 3′ de este cebador para comenzar una cadena de DNA, y continuará alargándola hasta que encuentre al siguiente cebador de RNA (Fig. 6-16).

Para producir una cadena de DNA nueva continua a partir de muchos tramos separados de RNA y DNA producidos sobre la cadena retrasada, se necesitan tres enzimas adicionales. Éstas actúan rápidamente eliminando el cebador de RNA, reemplazarlo con DNA y unir fragmentos de DNA entre sí. Así, una *nucleasa* rompe y separa el cebador de RNA, una DNA polimerasa, denominada *polimerasa reparadora*, reemplaza luego el RNA con DNA (utilizando los fragmentos de Okazaki adyacentes como cebadores), y la enzima *DNA ligasa* une el extremo 5′-fosfato de un nuevo fragmento de DNA al extremo 3′-hidroxilo del siguiente (véase Fig. 6-16).

La primasa puede comenzar una nueva cadena polinucleotídica, pero esta actividad es posible debido a que la enzima no realiza la corrección de su trabajo. Como resultado, los cebadores contienen una alta frecuencia de errores. Pero, puesto que los cebadores están constituidos por RNA en lugar de DNA, se destacan como "copias sospechosas" que son eliminadas automáticamente y reemplazadas por DNA. Este DNA es insertado por las polimerasas que reparan DNA que, al igual que las polimerasas replicativas, corrigen a medida que sintetizan. De esta forma, la maquinaria de replicación celular es capaz de comenzar cadenas de DNA nuevas y, al mismo tiempo, asegura que todo el DNA sea copiado con fidelidad.

PREGUNTA 6-2

Analice la siguiente afirmación: "La primasa es una enzima que comete muchos errores. Eventualmente, los cebadores de RNA que sintetiza son eliminados y reemplazados con DNA por una polimerasa de fidelidad. Esto es un derroche. Sería más eficiente energéticamente que una DNA polimerasa hiciera una copia exacta la primera vez."

Las proteínas en una horquilla de replicación cooperan formando una maquinaria de replicación

Como se mencionó anteriormente, la replicación del DNA requiere una variedad de proteínas que actúan en concierto. A continuación se considerarán las proteínas que, junto con la DNA polimerasa y la primasa, forman la maquinaria proteica que acciona la horquilla de replicación hacia delante y sintetizan un DNA nuevo detrás de ésta.

Para que la síntesis proceda, la doble hélice debe ser descomprimida delante de la horquilla de replicación de manera que los desoxirribonucleósidos trifosfatos puedan formar pares de bases con la cadena molde. Dos tipos de proteínas de la replicación –las DNA helicasas y las proteínas de unión a cadena simple– cooperan lle-

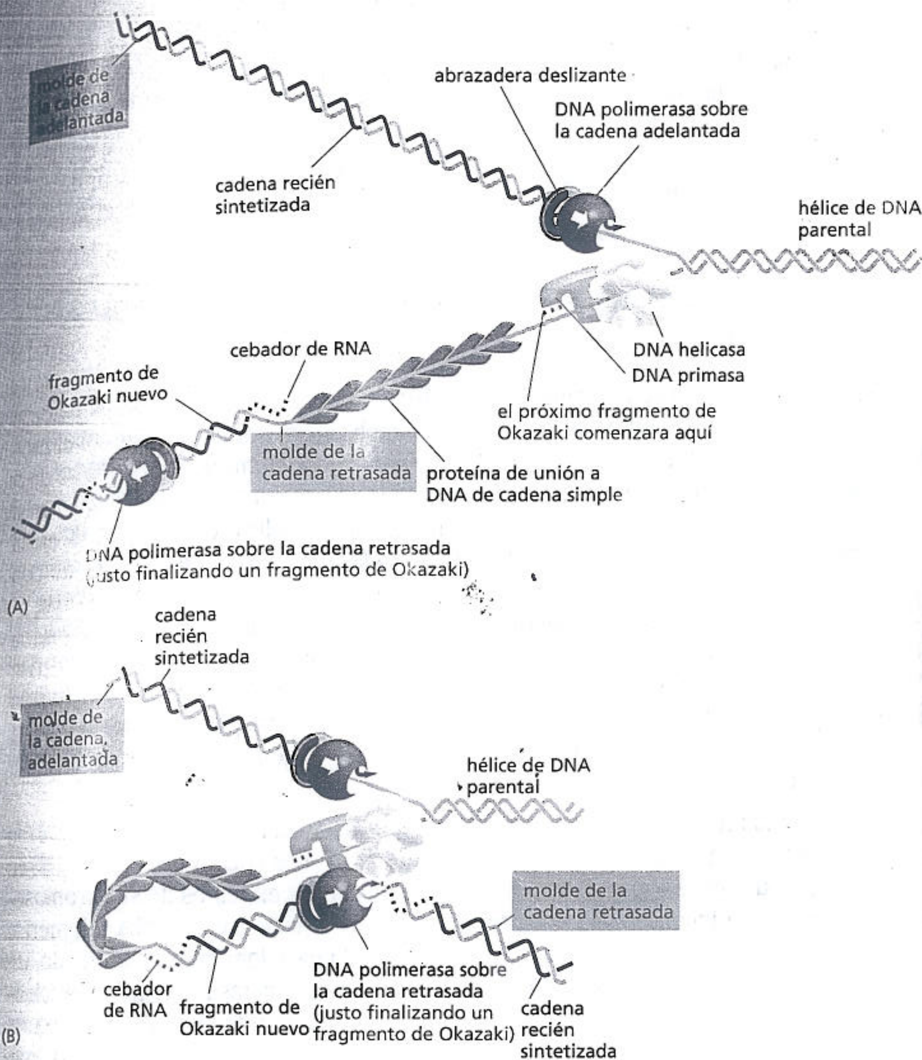


Figura 6-17. La síntesis del DNA es llevada a cabo por un grupo de proteínas que actúa conjuntamente como una maquinaria de replicación. (A) Se muestran dos moléculas de DNA polimerasa, una en la cadena adelantada y la otra en la cadena retrasada. Ambas son mantenidas en el DNA por una abrazadera proteica circular que permite el deslizamiento de la polimerasa. En la cadena retrasada, se necesita un cargador de la abrazadera (no se muestra) para readherir la abrazadera deslizante cada vez que se comienza un fragmento de Okazaki nuevo. En la cabeza de la horquilla de replicación, una DNA helicasa utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para impulsarse a sí misma hacia adelante y separar de este modo las cadenas de la doble hélice de DNA parental. Las proteínas de unión a DNA de cadena simple mantienen a esas cadenas separadas y proporcionan acceso a la primasa y la polimerasa. Para simplificar, la figura muestra a las proteínas trabajando independientemente; en la célula se mantienen juntas dentro de una gran maquinaria de replicación, como se muestra en (B). (B) Este diagrama muestra el aspecto habitual de la forma en que están organizadas las proteínas de replicación en la horquilla cuando se está moviendo. La estructura en (A) ha sido alterada mediante el plegamiento del DNA sobre la cadena retrasada para poner a la molécula de DNA polimerasa de esa cadena en contacto con la molécula de DNA polimerasa de la cadena adelantada. Este proceso de plegamiento acerca el extremo 3′ de cada fragmento de Okazaki completado al sitio de inicio para el siguiente fragmento de Okazaki. Como la DNA polimerasa de la cadena retrasada permanece unida al resto de las proteínas de replicación, puede ser reutilizada para la síntesis de los fragmentos de Okazaki sucesivos; en este esquema, está próximo a dejar su fragmento de DNA finalizado y desplazarse hacia el cebador de RNA que será sintetizado en las cercanías, como se requiere para comenzar el siguiente fragmento de DNA en la cadena retrasada. Para visualizar el complejo de replicación en acción, véase la película 6.5.

vando a cabo esta tarea. A la cabeza de la maquinaria de replicación se encuentra una *helicasa*, una proteína que utiliza la energía de hidrólisis del ATP para separar la doble hélice a medida que se mueve rápidamente (**Fig. 6-17A** y la **película 6.2**). La *proteína de unión a cadena simple* se adhiere al DNA de cadena simple expuesto por la helicasa, evitando de manera transitoria la reformación de pares de bases y manteniéndolo de forma estirada de modo que actúa rápidamente como un molde para la DNA polimerasa.

Una proteína de replicación, denominada *abrazadera deslizante*, mantiene a la DNA polimerasa firmemente adherida al molde de DNA mientras sintetiza las cadenas nuevas de DNA. Por su cuenta, la mayoría de las moléculas de DNA polimerasa sintetizarán sólo un segmento corto de nucleótidos antes de que se despeguen del molde de DNA. La abrazadera deslizante forma un anillo alrededor de la hélice de DNA, sujetando de manera ceñida a la polimerasa, y permite así que la misma se mueva a lo largo de la cadena molde sin despegarse a medida que sintetiza DNA nuevo (véanse Fig. 6-17A y película 6.3).

El ensamblaje de las abrazaderas alrededor del DNA requiere la actividad de otra proteína de replicación, el *cargador de la abrazadera*, que hidroliza ATP cada vez que asegura una abrazadera alrededor del DNA. Esta carga necesita producirse sólo una vez por ciclo de replicación en la cadena conductora; sin embargo, sobre la cadena rezagada, la abrazadera se disocia y se vuelve a adherir cada vez que se sintetiza un fragmento de Okazaki.

La mayoría de las proteínas involucradas en la replicación del DNA se mantienen juntas en un gran complejo multienzimático que se mueve como una unidad a lo

largo del DNA y permite que éste sea sintetizado en ambas cadenas de una forma coordinada. Ese complejo puede ser comparado con una máquina de coser minúscula constituida por partes proteicas e impulsada por la hidrólisis de nucleósidos trifosfato (película 6.4). Aunque se ha determinado la estructura de los componentes proteicos individuales de la máquina de replicación, no se conoce en detalle como se mantienen juntos entre sí y trabajan como un equipo. A pesar de esta falta de conocimiento detallado, se propusieron algunas ideas sobre el aspecto general del complejo (Fig. 6-17B).

Las telomerasas replican los extremos de los cromosomas eucariontes

Ya se ha analizado cómo comienza la replicación del DNA en los orígenes y cómo avanzan los movimientos de la horquilla de replicación, ahora se focalizará el problema de la replicación de los extremos mismos de los cromosomas. Como se describió, el hecho de que el DNA sea sintetizado solamente en la dirección 5' a 3' significa que la cadena retrasada de la horquilla de replicación se sintetiza en la forma de fragmentos de DNA discontinuos, cada uno de los cuales es cebado con un cebador de RNA por una enzima separada (véase Fig. 6-15). Sin embargo, cuando la horquilla de replicación se aproxima al extremo de un cromosoma, la maquinaria de replicación se encuentra con un problema grave: no hay lugar para establecer el cebador de RNA necesario para comenzar el fragmento de Okazaki en la punta de una molécula lineal de DNA. Sin una estrategia para enfrentar este problema, algunos DNA se perderán inevitablemente de los extremos de la molécula de DNA cada vez que ésta se replica.

Las bacterias resuelven el problema de la "replicación del extremo" porque tienen como cromosomas a moléculas de DNA circulares. Los eucariontes lo resuelven por medio de secuencias nucleotídicas especiales en los extremos de sus cromosomas que están incorporadas a los *telómeros*. Estas secuencias de DNA telomérico atraen una enzima al cromosoma que se denomina **telomerasa**. Utilizando un molde de RNA que es parte de la enzima misma, la telomerasa agrega los nucleótidos que se pierden cada vez que un cromosoma eucarionte se duplica mediante la adición de múltiples copias de la misma secuencia corta de DNA que actúa como un molde que permite que se complete la replicación de la cadena retrasada mediante la replicación convencional del DNA (Fig. 6-18).

Además de permitir la replicación de los extremos del cromosoma, los telómeros tienen funciones adicionales: por ejemplo, las secuencias repetidas de DNA telomérico, junto con las regiones adyacentes a éste, forman estructuras que son reconocidas por las células como los verdaderos extremos de los cromosomas. Esto

PREGUNTA 6-3

Un gen que codifica una de las proteínas involucradas en la replicación del DNA ha sido inactivado por una mutación en una célula. En la ausencia de esta proteína la célula intenta replicar su DNA por última vez. ¿Qué productos de DNA se generarán si se pierden cada una de las siguientes proteínas?
A. DNA polimerasa
B. DNA ligasa
C. Abrazadera deslizante para la DNA polimerasa
D. Nucleasa que elimina los cebadores de RNA
E. DNA helicasa
F. Primasa

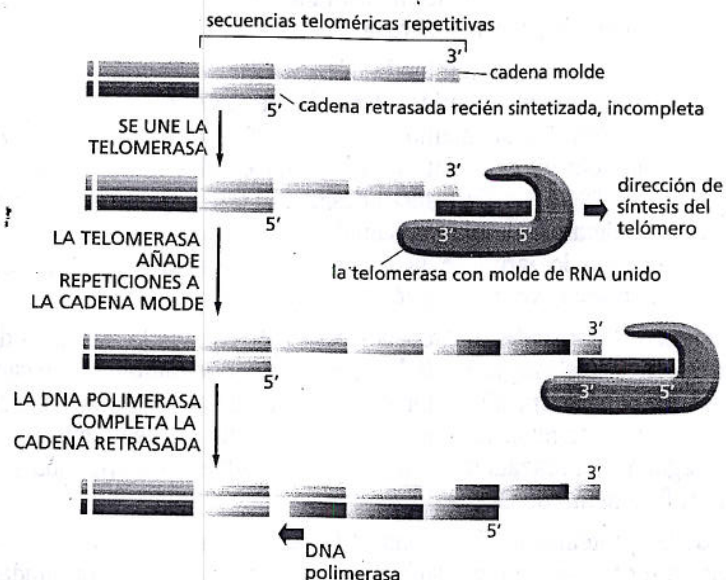


Figura 6-18. Los telómeros permiten que se complete las síntesis de DNA en los extremos de los cromosomas eucariontes. Para sintetizar la cadena retrasada en el extremo del cromosoma eucarionte, el mecanismo de la replicación del DNA requiere una longitud de molde de DNA que se extienda más allá del DNA que es copiado. En una molécula de DNA lineal, la síntesis de la cadena retrasada se detiene, por lo tanto, un poco antes del final del molde. La enzima telomerasa agrega una serie de repeticiones de una secuencias de DNA en el extremo 3′ de la cadena molde, que permiten que sea completada la cadena retrasada por la DNA polimerasa, como se muestra en esta figura. En los seres humanos, la secuencia nucleotídica de la repetición es GGGGTTA. La enzima telomerasa contiene dentro de ésta un fragmento corto de RNA (*azul*) cuya secuencia es complementaria a la secuencia repetida de DNA; este RNA actúa como molde para la síntesis de DNA por la telomerasa. Para visualizar la telomerasa en acción, véase la película 6.6.

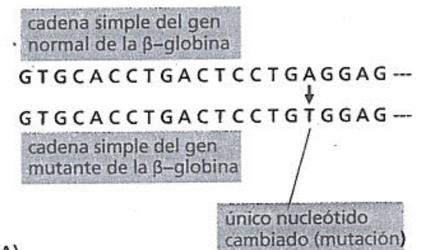
permite que cada extremo de cromosoma sea distinguible de las roturas de cadena doble que a veces se producen accidentalmente en la parte media de los cromosomas y deben ser reparadas, como se verá en la sección siguiente.

REPARACIÓN DEL DNA

La diversidad de los organismos vivos y su éxito en la colonización de cada parte de la superficie terrestre dependen de los cambios genéticos acumulados de manera gradual durante millones de años. Estos cambios permiten a los organismos adaptarse a las condiciones cambiantes y proliferar en hábitats nuevos. Sin embargo, a corto plazo y, desde la perspectiva de un organismo individual, las alteraciones a las secuencias génicas pueden ser perjudiciales –en especial en los organismos multicelulares–, en los que pueden alterar el desarrollo y la fisiología extremadamente compleja y finamente sincronizada. Para sobrevivir y reproducirse, los individuos deben ser genéticamente estables. Esta estabilidad se alcanza no solo a través del mecanismo extremadamente preciso de replicación del DNA ya descrito, sino también mediante el funcionamiento de una variedad de maquinarias proteicas que, de manera continua, registran el genoma en busca de daños y corregirlos. En su lugar, la mayoría del daño del DNA sólo es temporal debido a que es inmediatamente corregido por los procesos que colectivamente se denominan **reparación del DNA**.

Las mutaciones pueden tener consecuencias graves para una célula u organismo

Solo en casos raros los procesos de replicación y reparación del DNA de una célula fallan y permiten que se produzca un cambio permanente en el DNA. Esos cambios permanentes se denominan **mutaciones**, y pueden tener consecuencias profundas. Una mutación que afecta a sólo un par de nucleótidos puede comprometer gravemente la salud de un individuo si el cambio es causado en una posición vital en la secuencia de DNA. Como la estructura y la actividad de una proteína dependen de su secuencia de aminoácidos, una proteína con una secuencia alterada podría funcionar escasamente o perder su actividad. Por ejemplo, los seres humanos tienen la proteína hemoglobina que transporta oxígeno en la sangre (Fig. 4-10). Un cambio permanente en un solo nucleótido puede causar que las células produzcan una hemoglobina con una secuencia de aminoácidos incorrecta. Una de esas mutaciones provoca la enfermedad denominada *anemia falciforme* (Fig. 6-19). La hemoglobina de la anemia falciforme es menos soluble que la hemoglobina normal y forma precipitados fibrosos, que producen la forma falciforme característica de los glóbulos rojos afectados. Debido a que éstos son más frágiles con frecuencia se rompen en la circulación sanguínea, los pacientes con esta enfermedad potencialmente fatal tienen menor cantidad de glóbulos rojos que



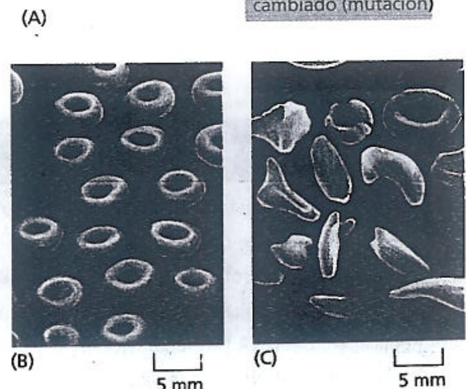


Figura 6-19. El cambio de un único nucleótido causa la anemia falciforme. (A) La β–globina es uno de los dos tipos de subunidades que forman la hemoglobina (véase Fig. 4-20). Un único cambio de nucleótido (mutación) en el gen de la β–globina produce una subunidad β–globina que difiere de la normal solamente en el cambio de ácido glutámico a valina en la posición del sexto aminoácido. (Aquí solo se muestra una porción pequeña del gen, la subunidad β–globina contiene un total de 146 aminoácidos). Los seres humanos llevan dos copias de cada gen (una heredada de cada progenitor); una mutación de la anemia falciforme en uno de los dos genes de la β–globina generalmente no es perjudicial, ya que es compensado por el gen normal. Sin embargo, si el individuo hereda dos copias mutadas de la β–globina, manifiesta los síntomas de la anemia falciforme. En (B) se muestran los glóbulos rojos normales y los de quienes padecen de anemia falciforme en (C). Aunque la anemia falciforme es una enfermedad que amenaza la vida, la mutación responsable también puede ser beneficiosa. Las personas con la enfermedad, o los portadores de un gen normal y un gen mutante, son más resistentes a la malaria que los individuos no afectados, debido a que el parásito que causa el paludismo crece escasamente en los glóbulos rojos que contienen a la hemoglobina con forma falciforme.

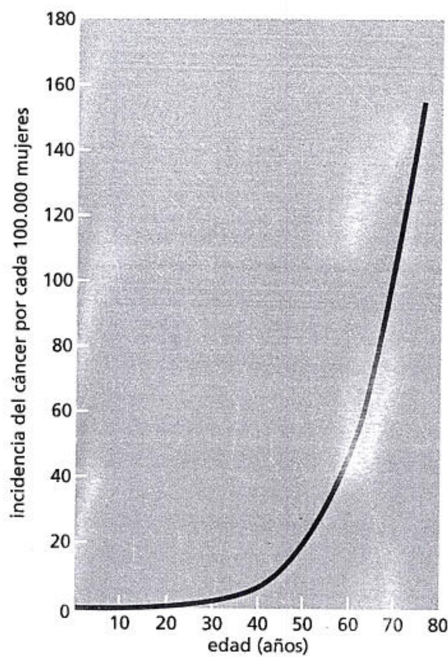


Figura 6-20. La incidencia de cáncer aumenta notablemente en relación con la edad. Se grafica el número de casos nuevos diagnosticados de cáncer de colon cada año en mujeres de Inglaterra y Gales en función de la edad en el momento del diagnóstico. El cáncer de colon es causado por la acumulación de mutaciones múltiples. Debido a que las células experimentan continuamente cambios accidentales en su DNA que acumulan y se transmiten a las células progenitoras, la probabilidad de que una célula sea cancerosa se incrementa, en gran medida, con la edad. (Datos de C. Muir y col., *Cancer Incidente in Five Continents*, Vol. V. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1987.)

lo normal (Fig. 6-19C), una deficiencia que puede causar debilidad, mareos, cefaleas, dolor e insuficiencia orgánica sistémica.

El ejemplo de la anemia falciforme, que es una enfermedad hereditaria, ilustra la importancia de proteger a las células reproductoras *(células germinales)* contra la mutación. Una mutación en una de estas células será transmitida a todas las células del cuerpo del organismo multicelular que se desarrollan a partir de ella, incluyendo las células germinales que producen la siguiente generación.

Las otras células en un organismo multicelular (sus *células somáticas*) también deben ser preservadas de los cambios genéticos que surgen durante la vida de un individuo. Los cambios nucleotídicos que se producen en las células somáticas pueden dar origen a células variantes, algunas de las cuales crecen y se dividen de un modo descontrolado a expensas de otras células en el organismo. En el caso extremo, sobreviene una proliferación celular descontrolada conocida como cáncer. Esta enfermedad, que es responsable de alrededor del 30% de las muertes en Europa y Estados Unidos, se debe principalmente a la acumulación gradual de cambios en las secuencias de DNA de las células somáticas causada por una mutación al azar (Fig. 6-20). El aumento de la frecuencia de mutaciones incluso al doble o al triple podría causar un incremento desastroso de la incidencia de cáncer por la aceleración de la tasa a la que se originan las variantes de las células somáticas.

Por lo tanto, la alta fidelidad con la que las secuencias de DNA son replicadas y mantenidas es importante tanto para las células reproductoras, que transmiten los genes a la siguiente generación, como para las células somáticas, que en condiciones normales funcionan como miembros cuidadosamente regulados de una comunidad compleja de células en el organismo multicelular. Por esa razón, no debe sorprender que todas las células posean un conjunto de mecanismos sofisticados que reducen la cantidad de mutaciones que se producen en el DNA.

Un sistema de reparación de apareamientos erróneos del DNA elimina los errores de replicación que escapan a la maquinaria de replicación

En la primera parte de este capítulo se describió que la alta fidelidad de la maquinaria de replicación de las células generalmente evita los errores de copiado. A pesar de esta protección, sin embargo, se producen muchos errores. Afortunadamente, la célula tiene un sistema de apoyo –denominado *reparación de apareamientos erróneos del DNA*– que se dedica a corregir esos errores poco frecuentes. El propio mecanismo de replicación produce aproximadamente un error por cada 10^7 nucleótidos copiados; la reparación de apareamientos erróneos corrige el 99% de tales errores y aumenta la precisión a un error en 10^9 nucleótidos copiados. Este nivel de exactitud es mucho más elevado del que generalmente se observa en la vida cotidiana (**Cuadro 6-1**).

Siempre que la maquinaria de replicación produce un error de copiado, deja por detrás un nucleótido mal apareado (comúnmente denominado apareamiento erróneo o incorrecto). Si queda sin corregir, la base mal apareada dará lugar a una mutación permanente en el próximo ciclo de replicación del DNA (**Fig. 6-21A**). Un complejo de proteínas de reparación del apareamiento erróneo reconoce a estas bases mal apareadas, elimina (escinde) una de las dos cadenas de DNA involucradas en la apareamiento erróneo y resintetiza la cadena faltante (**Fig. 6-22**). Para ser efectivo en

CUADRO 6-1 TASAS DE ERROR

Servicio postal de Estados Unidos con entrega puntual de correspondencia local de primera clase	13 entregas tardías por cada 100 paquetes
Sistema de equipaje de las aerolíneas	1 maleta perdida por cada 200
Un mecanógrafo profesional tipeando 120 palabras por minuto	1 error por cada 250 caracteres
Conducción de vehículos en los Estados Unidos	1 muerte por cada 10^4 personas por año
Replicación del DNA (sin reparación de los apareamientos erróneos)	1 error por cada 10^7 nucleótidos copiados
Replicación del DNA (con reparación de los apareamientos erróneos)	1 error por cada 10^9 nucleótidos copiados

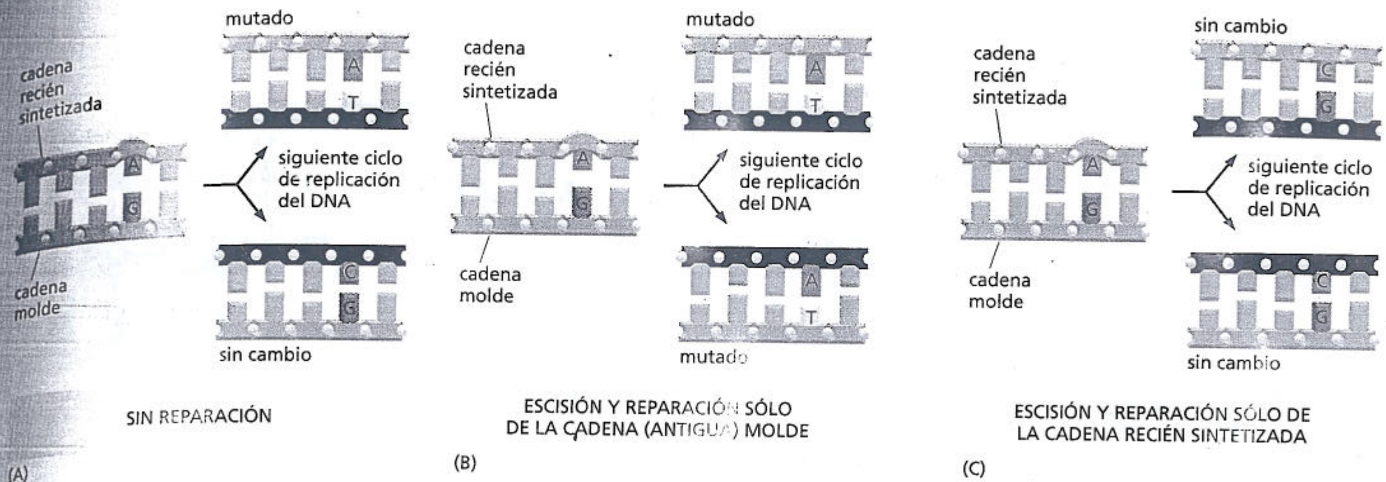


Figura 6-21. Los errores generados durante la replicación del DNA son corregidos evitando mutaciones. (A) Si no es corregido, el apareamiento de bases incorrecto llevará a una mutación permanente en una de las dos moléculas de DNA producidas en el siguiente ciclo de replicación del DNA. (B) Si el error es "reparado" utilizando la cadena de DNA recién sintetizada como molde, ambas moléculas de DNA que producidas en el siguiente ciclo de replicación del DNA contendrán una mutación. (C) Si el error es corregido utilizando la cadena molde original (antigua) como modelo, se elimina la posibilidad de una mutación. El esquema que se muestra en (C) es el que se produce en las células reparando los errores de apareamiento, como se observa en la figura 6-22.

corrección de los errores de replicación, este sistema de reparación de los apareamientos erróneos debe eliminar solamente la cadena de DNA recién sintetizada: escindir la otra cadena (la cadena vieja) duplicaría el error en lugar de corregirlo (véase Figs. 6-21 B y C).

En los eucariontes, todavía no se conoce con seguridad cómo el mecanismo de reparación de apareamiento erróneo distingue las dos cadenas de DNA. Sin embargo, existe evidencia de que las cadenas de DNA recién replicadas –la adelantada y la retrasada– son las que se cortan preferentemente; es decir que estas mellas (roturas de cadenas simples) que aparecen proporcionan la señal que dirige a la maquinaria de reparación del apareamiento erróneo a la cadena correspondiente (véase Fig. 6-22).

La reparación del apareamiento erróneo cumple una función importante en prevenir el cáncer. Una predisposición hereditaria de ciertos cánceres (especialmente algunos tipos de cáncer de colon) es causada por mutaciones en genes que codifican las proteínas de reparación de apareamientos erróneos. Los seres humanos heredan dos copias de estos genes (uno de cada progenitor), y los individuos que heredan uno de estos genes dañados no muestran síntomas hasta que la copia inalterada del mismo gen es mutada de manera aleatoria en una célula somática. Cuando esta célula mutante se divide, da origen a un clon de células somáticas, que debido a que son deficientes en la reparación de apareamientos erróneos tiene una posibilidad incrementada en gran medida de convertirse en cancerosa. Por lo tanto, heredar un gen dañado de reparación de apareamientos erróneos predispone a un individuo al cáncer.

El DNA sufre daño continuamente en las células

Los errores poco comunes en la replicación del DNA, como hemos visto, pueden ser corregidos por los mecanismos de reparación de apareamiento erróneo. Pero existen otras formas en las que el DNA puede ser dañado que requieren mecanismos diferentes para su corrección. Al igual que cualquier otra molécula en la célula, el DNA sufre permanentemente colisiones térmicas con otras moléculas y esto

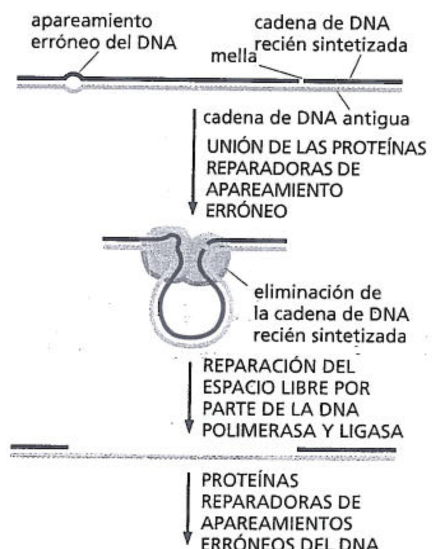


Figura 6-22. Las proteínas de reparación de apareamientos incorrectos corrigen los errores que se producen durante la replicación del DNA. Un apareamiento erróneo del DNA, que se forma cuando una base apareada de manera incorrecta se incorpora a una cadena de DNA recién sintetizada, distorsiona la geometría de la doble hélice. Esta distorsión es reconocida por las proteínas reparadoras de apareamiento erróneo, las cuales eliminan luego el DNA recién sintetizado. El espacio libre en el DNA recién sintetizado es reemplazado por una DNA polimerasa que corrige a medida que sintetiza y es sellada por la DNA ligasa. Como se muestra en la figura, una mella en el DNA ha sido propuesta como la señal que permite a las proteínas reparadoras de apareamientos erróneos distinguir al DNA recién sintetizado (que contiene el error) de la cadena antigua. Esas mellas se producen en las cadenas retrasadas (véase Fig. 6-12) y también, aunque con menor frecuencia, en las cadenas adelantadas. Estas mellas permanecen solamente por un breve período después de que la horquilla de replicación ha pasado (véase Fig. 6-16), de modo que la reparación del apareamiento erróneo debe ocurrir rápidamente.

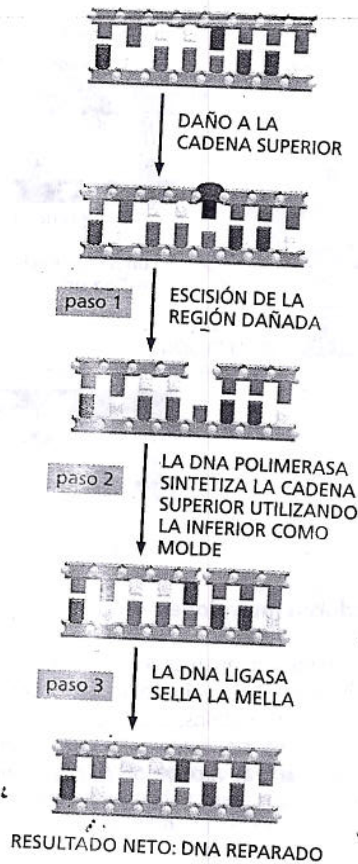


Figura 6-26. El mecanismo básico de la reparación del DNA comprende tres etapas: escisión, nueva síntesis y ligación. En la etapa 1 (escisión), el daño es cortado y elimi[nado] por una serie de nucleasas, cada una especializada en un tipo de daño del DNA. En la etapa 2 (nueva síntesis), la secuencia de DNA original es restaurada por una DNA polimerasa reparadora, que llena el espacio libre creado por la eliminación. En la etapa 3 (ligación), la DNA ligasa sella la melladura dejada en el eje azúcar-fosfato de la cadena reparada. El sellado de la mella, que requiere energía de la hidrólisis del ATP, vuelve a generar el enlace fosfodiéster roto entre los nucleótidos adyacentes. Algunos tipos de daño del DNA (p. ej., la desaminación de la citosina; figura 6-23) implican el reemplazo de un único nucleótido, como se muestra en la figura. Para reparar otras clases de daño, como los dímeros de timina (véase Fig. 6-24), se elimina un largo tramo de 10 a 20 nucleótidos de la cadena dañada.

sintetiza las cadenas en la dirección 5' a 3' y tiene el mismo tipo de actividad correctora que asegura que la cadena molde sea copiada con precisión. En muchas células, ésta es la misma enzima que llena el espacio dejado después de que los RNA cebadores son eliminados durante la replicación normal del DNA (véase Fig. 6-16).

3. Cuando la polimerasa que repara el DNA llenó el espacio, una rotura se mantiene en el eje azúcar-fosfato de la cadena reparada. Esta mella en la cadena es sellada por la DNA ligasa, la misma enzima que une los fragmentos de DNA de la cadena retrasada durante la replicación del DNA.

Los pasos 2 y 3 son casi los mismos en la mayoría de los tipos de reparación del DNA. Sin embargo, el paso 1 utiliza una serie de enzimas diferentes, cada una especializada en la eliminación de diferentes tipos de DNA dañado.

La importancia de estos procesos de reparación está dada por la gran inversión que las células realizan en enzimas de reparación del DNA. Los organismos unicelulares, como las levaduras, contienen más de 50 proteínas diferentes que funcionan en la reparación del DNA, y las vías de reparación del DNA probablemente son aun más complejas en los seres humanos. La importancia de estos procesos de reparación del DNA también es evidente por las consecuencias de su mal funcionamiento. Los seres humanos con la enfermedad genética *xeroderma pigmentoso*, por ejemplo, no pueden reparar los dímeros de timina (véase Fig. 6-24) debido a que han heredado un gen defectuoso para una de estas proteínas que intervienen en este proceso de reparación. Estos individuos desarrollan lesiones de la piel graves, incluso cáncer, como resultado de la acumulación de dímeros de timina en las células expuestas a la luz solar y a las mutaciones resultantes que se originan en las células que las contienen.

Las rupturas de cadena doble se pueden reparar rápidamente pero de manera imperfecta

Un tipo de daño del DNA particularmente peligroso se produce cuando ambas cadenas de la doble hélice se rompen y no queda cadena molde intacta que guíe adecuadamente la reparación. La radiación ionizante, algún percance en la horquilla de replicación, los agentes oxidantes fuertes y los metabolitos producidos en la célula pueden causar rupturas de este tipo. Si estas lesiones permanecen sin ser reparadas, podrían rápidamente conducir a la fragmentación de los cromosomas y causar una pérdida de genes cuando la célula se divida.

Diversos mecanismos han evolucionado reparando este tipo de daño potencialmente desastroso. En las células somáticas humanas, la forma más común de reparación de rotura bicatenaria es mediante un mecanismo que se denomina **unión de extremos no homólogos**. En este proceso, los dos extremos rotos son aproximados a través de un grupo especializado de enzimas y vueltos a unir por ligación del DNA. Aunque este mecanismo repara la ruptura, se suelen perder nucleótidos en el sitio de la reparación (Fig. 6-27). Dado que esta pequeña porción de los genomas de mamífero contiene información útil, este mecanismo "rápido y sucio" aparentemente es una solución aceptable al problema de reparación de los cromosomas rotos.

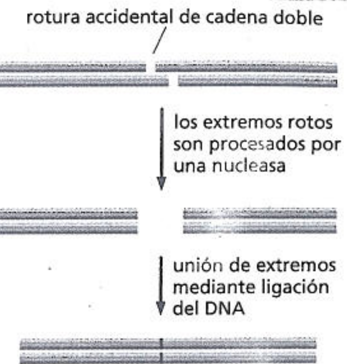


Figura 6-27. Las células pueden utilizar la unión de extremos no homólogos para reparar roturas de cadena doble. Este mecanismo "rápido y sucio" altera la secuencia original de DNA durante el proceso de reparación. Las alteraciones en general son deleciones cortas.

Las células también tienen una alterativa, la estrategia libre de error para la reparación de roturas bicatenarias, en particular aquellas que se producen en el DNA recientemente replicado. Este mecanismo, que se denomina *recombinación homóloga* se analiza en la siguiente sección del capítulo.

En las secuencias genómicas se preserva un registro de la fidelidad de la replicación y la reparación del DNA

En este capítulo se ha visto que el DNA es replicado y mantenido con fidelidad notable. Como consecuencia, los cambios en el DNA se acumulan con suma lentitud en el curso de la evolución. La selección natural también cumple una función, aunque la mayoría de las mutaciones no suelen ser ni beneficiosas ni perjudiciales para un organismo, las que tienen derivaciones perjudiciales son eliminadas de la población mediante la muerte o la fertilidad reducida de los portadores individuales del DNA alterado. Pero incluso donde no actúa la selección en muchos sitios del DNA donde un cambio de nucleótido no tiene efecto sobre la salud del organismo el mensaje genético se mantiene con exactitud durante cientos a millones de años. Por lo tanto, los seres humanos y el chimpancés, después de cerca de 5 millones de años de evolución divergente, todavía tienen secuencias de DNA que son, al menos, idénticas en un 98%. Incluso los seres humanos y las ballenas, después de 10 a 20 veces este período, tienen cromosomas que son inequívocamente similares en su secuencia de DNA y muchas proteínas con secuencias aminoacídicas que son casi idénticas (Fig. 6-28). Por lo tanto, en los genomas, nosotros y nuestros parientes, recibimos un mensaje desde el pasado lejano. Gracias a la fidelidad de la replicación y reparación del DNA, 100 millones de años apenas han cambiado su contenido esencial.

RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA

Hasta ahora se ha analizado cómo los mecanismos de replicación y reparación del DNA mantienen las secuencias nucleotídicas en las células de generación en generación con muy pocos cambios. Como se destacó, estos mecanismos se basan en la redundancia inherente a la doble hélice de DNA, en la cual cada cadena se aparea con una segunda cadena que contiene la secuencia complementaria. Si los nucleótidos de una cadena se dañan, pueden ser reparados utilizando la información proporcionada por la cadena complementaria.



Figura 6-28. Los genes que determinan el sexo en los seres humanos y en las ballenas son inconfundiblemente similares. Aunque sus planes corporales son muy diferentes, los seres humanos y las ballenas están constituidos por las mismas proteínas. A pesar de los millones de años transcurridos desde la divergencia del hombre y las ballenas, las secuencias de nucleótidos de muchos de sus genes todavía son estrechamente semejantes. Las secuencias de una parte del gen que codifica la masculinidad en los seres humanos y en las ballenas se muestran una arriba de la otra y están *sombreadas* las posiciones donde ambas son idénticas.

¿Pero qué le sucede a la información genética cuando ambos miembros de un par de nucléotidos se dañan de manera simultánea, por ejemplo, cuando se rompe la doble cadena? Como se describió al principio, una forma de reacondicionar el daño es unir los extremos no homólogos y recomponer rápidamente el daño. Sin embargo, ese mecanismo suele sacrificar la información contenida en el sitio de la lesión. Una solución más prolija es la participación de la información genética proporcionada por un DNA bicatenario completamente diferente que repara en forma precisa la ruptura. Esta estrategia es realizada por un grupo de reacciones que de manera conjunta se denominan como **recombinación homóloga**. Su característica central es el intercambio de información genética entre un par de moléculas de DNA homólogas: es decir, DNA bicatenarios que son similares o idénticos en secuencia nucleotídica. En este proceso participa información presente en un DNA bicatenario intacto, sin daño, como un molde que repara en forma precisa un DNA bicatenario roto.

Además de su función en la reparación, la recombinación homóloga también es responsable de generar diversidad durante la *meiosis*, la forma especializada de división celular mediante la cual los organismos que se reproducen sexualmente producen las células germinales. En este caso, la recombinación homóloga intercambia físicamente información genética entre los cromosomas homólogos paternos y maternos produciendo cromosomas con secuencias de DNA nuevas. El beneficio evolutivo potencial de este tipo de mezcla de genes es que se generan combinaciones nuevas de genes, tal vez beneficiosas, que pasarán a través de la descendencia de un organismo.

La reparación impecable de las roturas bicatenarias y el intercambio de información genética en la meiosis, a simple vista, parecen ser dos procesos no relacionados. Pero en esta sección se verá que sus mecanismos subyacentes son muy similares y que se basan en un grupo similar de reacciones y componentes proteicos.

La recombinación homóloga requiere regiones extensas de similitud de secuencia

Si el producto final es la reparación del DNA o el intercambio de secuencias nucleotídicas durante la meiosis, la marca distintiva de la recombinación homóloga es que tiene lugar sólo cuando los DNA bicatenarios contienen regiones extensas de similitud (homología) de secuencia. Un par de moléculas de DNA puede evaluar su homología al realizar una muestra entre sí de sus secuencias nucleotídicas cuando una cadena simple de un DNA bicatenario se interconecta mediante apareamiento de bases con la cadena complementaria de la otra molécula bicatenaria en un segmento extenso. La coincidencia no tiene que ser perfecta para que se produzca la recombinación homóloga, pero si debe ser muy cercana.

La recombinación homóloga puede reparar perfectamente las roturas del DNA bicatenario

La recombinación homóloga con frecuencia se inicia cuando se produce una ruptura en la doble cadena corto tiempo después de que el DNA se ha replicado; en ese momento, las hélices duplicadas aún se encuentran en estrecha proximidad una con otra (Fig. 6-29A). La reparación comienza cuando una nucleasa genera extremos de cadena simple en la rotura al digerir hacia atrás una de las cadenas de DNA complementarias (Fig. 6-29B). Con la ayuda de enzimas especializadas, una de estas cadenas simples luego "invade" el DNA bicatenario homólogo al formar apareamientos de bases, se crea un *punto de ramificación* donde las dos cadenas una de cada bicatenario se cruzan (Fig. 6-29C). En este punto, la cadena invasora es alargada por una DNA polimerasa reparadora, utilizando la cadena complementaria como molde (Fig. 6-29D). El punto de ramificación luego "migra" a medida que los pares de bases mantienen juntos las brechas de las cadenas dobles, y se forma una nueva a partir de ella (Fig. 6-29E). La reparación se completa por síntesis de DNA adicional, seguida por la ligación del DNA (Fig.

6-29F). El resultado neto son dos hélices de DNA intactas, donde la información genética de una se utilizó como molde para reparar la otra.

La recombinación homóloga también puede reparar muchos otros tipos de daño del DNA, tornándola tal vez como el mecanismo de reparación del DNA más versátil disponible para la célula: todo lo que se necesita es un cromosoma homólogo intacto y tales cromosomas idénticos apareados se producen de manera transitoria cada vez que un cromosoma se replica. La naturaleza de la reparación recombinatoria probablemente explique por qué este mecanismo y las proteínas que lo realizan, se conservaron virtualmente en todas las células sobre la Tierra.

La recombinación homóloga intercambia información genética durante la meiosis

Los organismos que se reproducen sexualmente dependen del proceso de meiosis que generan células germinales, espermatozoides y óvulos, en el caso de los

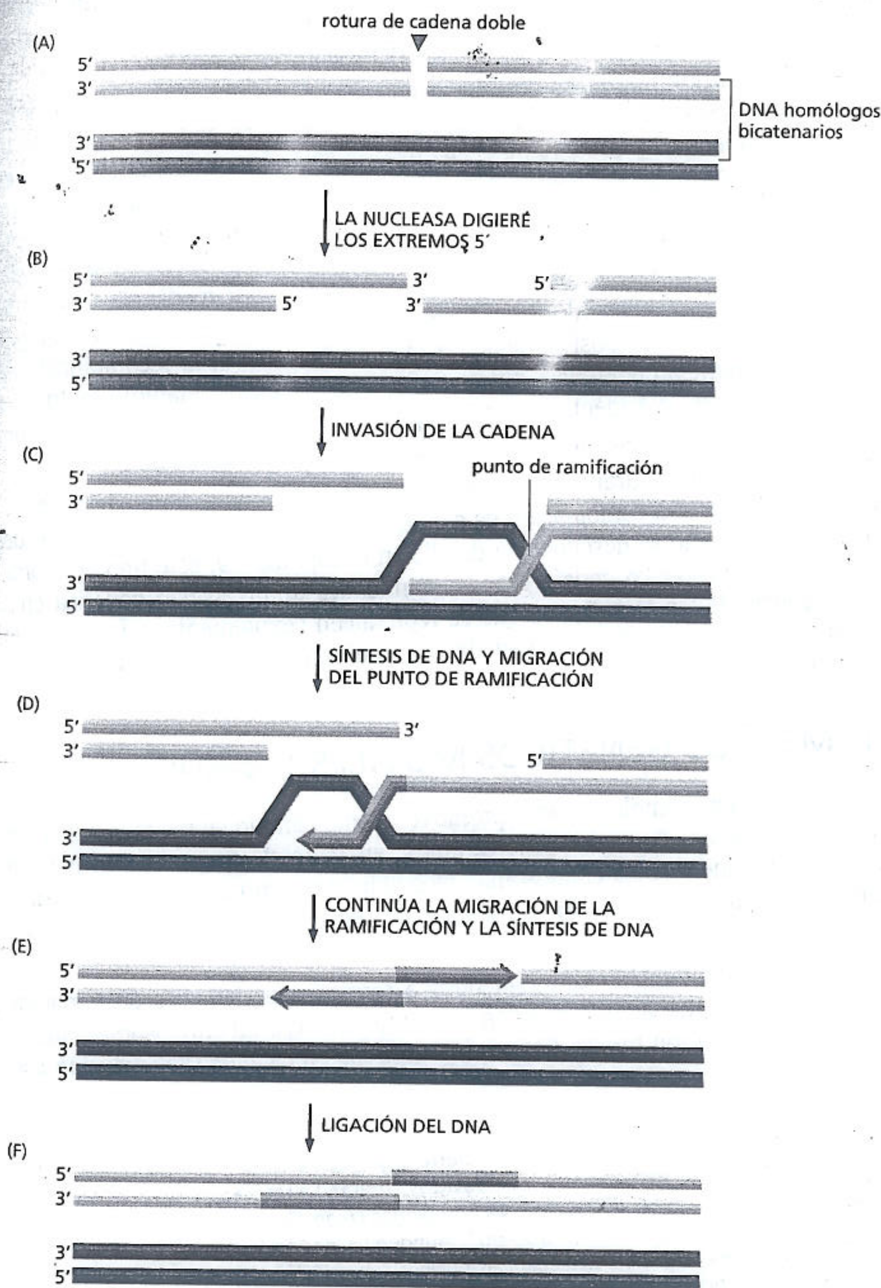


Figura 6-29. La recombinación homóloga permite la reparación impecable de las roturas de cadena doble de DNA. Este es el método preferido para la reparación de roturas de cadena doble que surgen corto tiempo después de que se ha replicado el DNA pero antes de que la célula se divida. (Adaptado de M. MCVey et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* USA 101:1569415699, 2004. Con autorización de National Academy of Sciences.)

mamíferos. La recombinación homóloga es esencial para que este proceso proceda apropiadamente, como se describirá en detalle en el capítulo 19. Una consecuencia en particular importante de la recombinación homóloga durante la meiosis es la formación de *entrecruzamientos*. Aquí, los dos cromosomas homólogos, uno del padre y el otro de la madre, se reúnen y sufren intercambio genético (Fig. 6-30). El sitio de intercambio puede encontrarse en cualquier lugar en la secuencia nucleotídica homóloga de las dos moléculas de DNA participantes. Los acontecimientos de escisión y reunión que median el intercambio se producen de manera tan precisa que no se pierde ni se gana un solo nucleótido.

Debido a que los cromosomas paterno y materno en general difieren levemente en sus secuencias, este entrecruzamiento genera combinaciones nuevas de secuencias de DNA en cada cromosoma. El beneficio de esa mezcla de genes para la progenie de los organismos es aparentemente tan grande que la redistribución de genes mediante recombinación homóloga no se limita a los organismos de reproducción sexual, sino que también se encuentra ampliamente extendida entre los organismos que se reproducen asexualmente, por ejemplo, cuando una bacteria adquiere un cromosoma homólogo de otra célula bacteriana a través de la *transferencia génica horizontal*, como se describirá en el capítulo 9.

La recombinación homóloga durante la meiosis comienza con la intervención de una enzima especializada que de manera deliberada corta ambas cadenas de uno de los cromosomas recombinantes, creando una rotura de cadena doble. En este punto, algunas de las mismas proteínas que funcionan en la reparación de la ruptura de cadena doble convergen en el sitio del "daño". Sin embargo, estas proteínas recombinatorias ahora son dirigidas por proteínas específicas de la meiosis y llevan a cabo sus tareas diferenciales, produciendo –por medio de una o más moléculas entrecruzadas– dos moléculas con secuencias de DNA nuevas (Fig. 6-31). Este resultado es posible debido a que, en la meiosis, la recombinación se produce de manera preferencial entre cromosomas paterno y materno en lugar de entre cadenas de DNA idénticas, recién replicadas, como sucede cuando la recombinación homóloga media la reparación de la rotura de cadena doble.

El entrecruzamiento durante la meiosis asegura que cada uno de nuestros cromosomas contenga una combinación de secuencias de DNA a partir de nuestros dos progenitores. Como se describe con detalle en el capítulo 19, este tipo de reordenamiento cromosómico genera grandes cantidades de diversidad genética en la descendencia de los organismos que se reproducen sexualmente y, por lo tanto, contribuye en gran medida a la variedad deslumbrante de formas de vida presentes en el planeta.

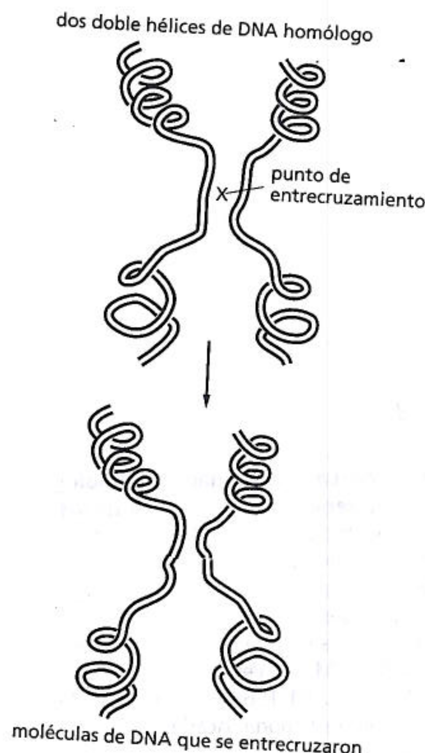


Figura 6-30. La recombinación homóloga tiene lugar entre moléculas de DNA con una secuencia de nucleótidos similar. La rotura y la nueva unión de dos doble hélices de DNA homólogas crean dos moléculas de DNA que se han "entrecruzado". Aunque las dos moléculas de DNA originales deben tener secuencias nucleotídicas similares para entrecruzarse, no necesitan ser idénticas; por lo tanto, un entrecruzamiento puede crear moléculas de DNA con una secuencia de nucleótidos nueva.

ELEMENTOS GENÉTICOS MÓVILES Y VIRUS

La recombinación homóloga puede promover el intercambio de secuencia de DNA entre cromosomas. Pero esos intercambios, en general, son conservativos: el orden de los genes en los cromosomas recombinados continua siendo el mismo, debido a que la recombinación se produce sólo entre cromosomas que son muy similares en secuencia.

Pero los genomas también son sometidos a formas más drásticas de variación genética, cambios que alteran el orden de los genes sobre un cromosoma o incluso añaden información nueva. Esta es la forma más radical de remodelación que

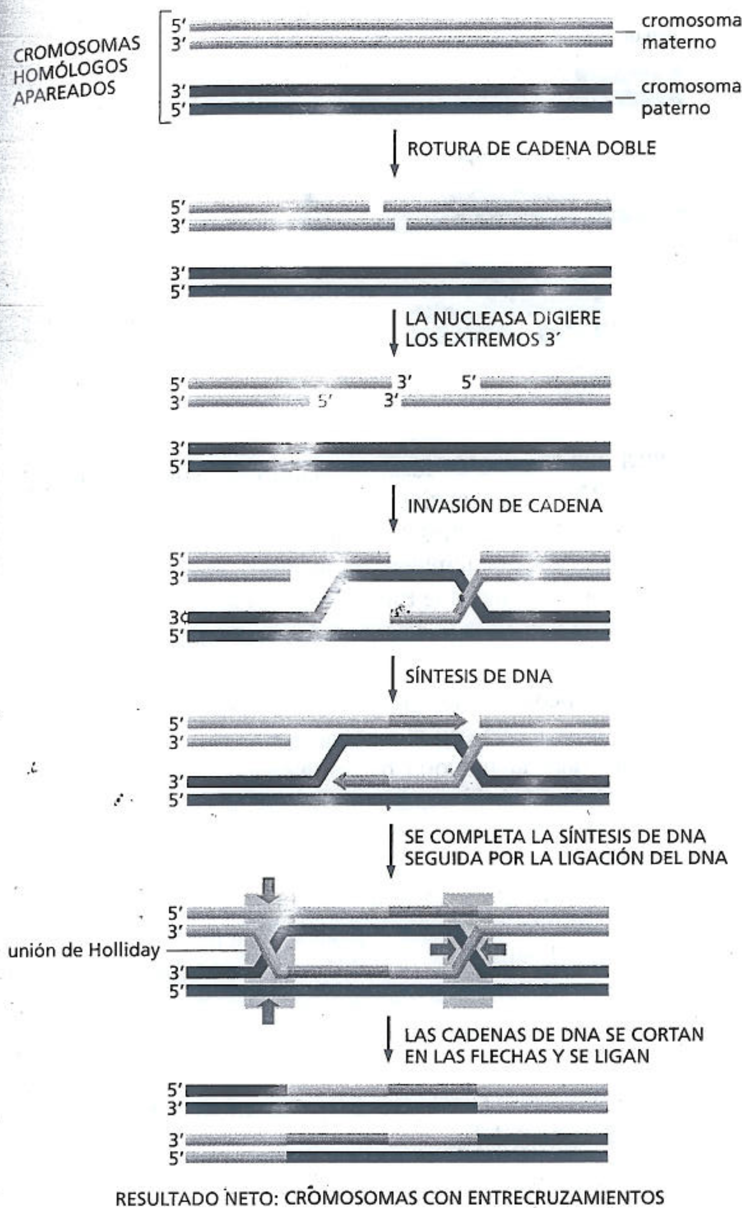


Figura 6-31. La recombinación homóloga en la meiosis genera entrecruzamientos. Una vez que las proteínas específicas de la meiosis han cortado el DNA bicatenario y procesado los extremos, la recombinación homóloga procede a través de la formación de dos uniones de Holliday (recuadros *azules*), los sitios donde se cruzan los DNA bicatenarios, llamados así por el científico que los descubrió. Véase la película 6.7 para observar sus estructuras bajo un microscopio electrónico. Muchos de los pasos que producen los entrecruzamientos de cromosomas durante la meiosis se asemejan a los que se utilizan para reparar las roturas de DNA de cadena doble (comparar con la figura 6-29).

se comentara a continuación. Los agentes que producen estos cambios genéticos drásticos son los **elementos genéticos móviles**, conocidos de manera informal como genes saltarines. Se encuentran en casi todas las células, estos elementos son segmentos cortos de DNA, especializados que pueden moverse desde una posición en el genoma celular a otra. Aunque pueden insertarse por sí mismos en virtualmente cualquier secuencia dentro del genoma, la mayoría de los elementos genéticos móviles carecen de capacidad para dejar la célula donde residen. Su movimiento se restringe a una célula única y a sus descendientes.

Este caso no es el de los *virus*. Esencialmente consisten en genes que se encuentran dentro de una cubierta protectora; los virus son los DNA móviles más colosales, en el sentido de que pueden escapar de una célula e infectar a otra. Esta sección finaliza con un breve análisis acerca de los virus que, aunque en ocasiones son beneficiosos para las células, también son responsables de algunas de nuestras enfermedades más devastadoras.

Los elementos genéticos móviles codifican los componentes que necesitan para el movimiento

A diferencia de la recombinación homóloga, el movimiento de los elementos genéticos móviles no requiere la similitud de secuencia del DNA. En su lugar, cada ele-

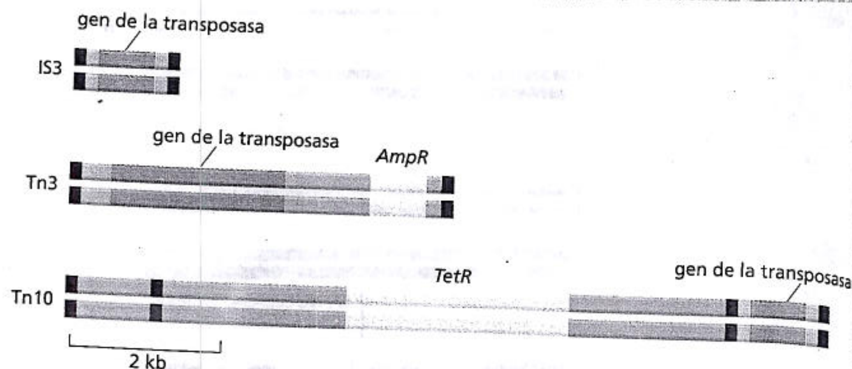


Figura 6-32. Las bacterias contienen muchos transposones solo de DNA, tres de los cuales se muestran. Cada uno de estos elementos contiene un gen que codifica una transposasa *(azul)*, enzima que cataliza el movimiento de ese elemento. Cada transposón también transporta secuencias de DNA (indicado en *rojo*) que son reconocidas solamente por su propia transposasa y que se requieren para el movimiento del mismo. Algunos elementos genéticos móviles transportan, además, genes que codifican enzimas que inactivan a antibióticos como la ampicilina (*AmpR*) y la tetraciclina (*TetR*). Los movimientos de estos genes representan un problema grave en medicina, ya que muchas bacterias patógenas adquirieron resistencia a muchos de los antibióticos desarrollados durante el siglo XX.

mento codifica una enzima de recombinación especializada que media su movimiento (Fig. 6-32). Estas enzimas reconocen y actúan sobre secuencias de DNA únicas que están presentes en cada elemento genético móvil. Muchos elementos genéticos móviles también transportan otros genes, por ejemplo, los elementos genéticos móviles que transportan genes de resistencia antibiótica han contribuido en gran medida a la diseminación amplia de resistencia antibiótica en poblaciones bacterianas.

Los elementos genéticos móviles también se denominan **transposones** y, en general, se clasifican de acuerdo con el mecanismo por el cual se mueven o transponen. En las bacterias, la mayoría de los elementos genéticos móviles son los *transposones sólo de DNA*. El nombre deriva del hecho de que, durante su movimiento, el elemento permanece como DNA, en lugar de ser convertido a RNA como otros elementos que se analizan más adelante. Las bacterias contienen muchos transposones de DNA diferentes, algunos se mueven hacia el sitio diana utilizando un mecanismo de cortado y pegado simple, donde el elemento simplemente es escindido del genoma e insertado en un sitio diferente; otros transposones de DNA replican su DNA antes de insertarse dentro del nuevo sitio cromosómico, dejando la copia original intacta en su localización anterior (Fig. 6-33).

El genoma humano contiene dos familias principales de secuencias transponibles

Increíblemente, casi la mitad del genoma humano está constituido de millones de copias de diversos elementos genéticos móviles, que forman una parte muy grande de nuestro DNA. Algunos de estos elementos se han desplazado de un lugar a otro dentro del genoma humano utilizando los mecanismos de cortado y pegado mencionados anteriormente para los transposones constituidos sólo por DNA (véase Fig. 6-33A). Sin embargo, muchos otros no se desplazaron como DNA sino mediante un intermediario de RNA. Se los llama **retrotransposones** y son, en la medida que se conoce, exclusivos de los eucariontes.

Un tipo de retrotransposón humano abundante, el *elemento L1* (a veces designado como *LINE–1*), se transcribe a RNA mediante las RNA polimerasas de la célula hospedadora. Una copia de DNA de este RNA se sintetiza mediante una enzima que se denomina **transcriptasa inversa**, una DNA polimerasa inusual que puede usar RNA como un molde. La transcriptasa inversa está codificada por el elemento *L1* en sí mismo. La copia de DNA del elemento después se puede integrar a otro sitio en el genoma (Fig. 6-34).

Los elementos *L1* constituyen cerca del 15% del genoma humano. Aunque la mayor parte de las copias son inmóviles debido a la acumulación de mutaciones deletéreas, unas pocas conservan todavía la capacidad de transponer. Su movimiento, a veces, puede producir una enfermedad humana, por ejemplo, hace 40 años, el movimiento de un elemento *L1* en el gen que codifica el factor VIII, una proteína esencial para la coagulación sanguínea, causó la hemofilia en un individuo sin antecedentes familiares de la enfermedad.

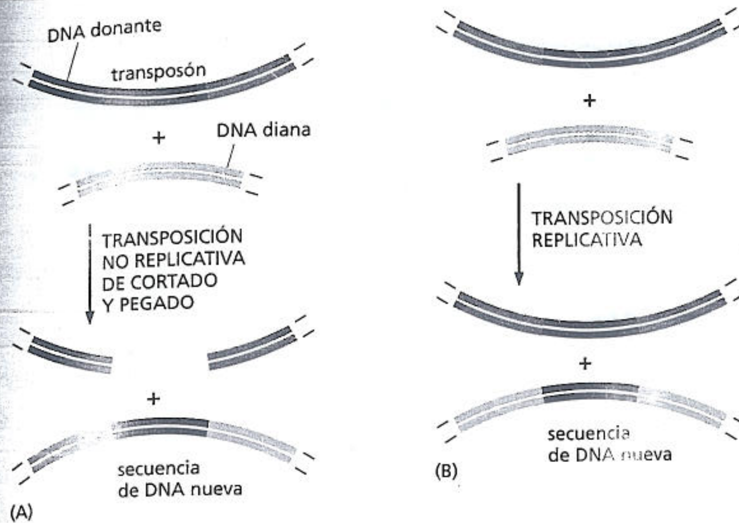


Figura 6-33. Los transposones bacterianos se mueven mediante dos mecanismos. (A) En la transposición mediante el mecanismo de cortar y pegar, el elemento es cortado y eliminado del DNA donante e insertado en el DNA diana, dejando una molécula donante rota (el DNA donante puede ser reparado de diversas formas, pero esto a veces resulta en deleciones o reordenamiento de la molécula donante). (B) En el curso de la transposición replicativa, el elemento es copiado por la replicación del DNA. Los productos finales son una molécula idéntica a la donante original y una molécula diana que tiene un elemento genético móvil insertado en ella. En general, un tipo particular de transposón se mueve solo mediante uno de estos mecanismos. Sin embargo, los dos mecanismos tienen muchas similitudes enzimáticas, y unos pocos transposones pueden moverse por uno u otro mecanismo. El DNA donante y el DNA diana pueden ser parte de la misma molécula de DNA o residir en moléculas diferentes.

Otro tipo de retrotransposón, la *secuencia Alu,* se encuentra presente en cerca de un millón de copias en nuestro genoma. Los elementos *Alu* no codifican su propia transcriptasa inversa y por lo tanto dependen de enzimas presentes en la célula que las ayuden a moverse.

Las comparaciones de la secuencia y las localizaciones de los elementos *Alu* y *L1* en diferentes mamíferos sugieren que estas secuencias proliferaron en primates en forma relativamente reciente en el tiempo evolutivo (Fig. 6-35). Estos elementos altamente abundantes, dispersados en todo nuestro genoma, deben haber tendido efectos importantes en la expresión de muchos de nuestros genes. Es una lección de humildad contemplar cómo muchas de nuestras cualidades humanas únicas podríamos debérselas a estos elementos genéticos parásitos.

Los virus son elementos genéticos completamente móviles que pueden escapar de las células

Los **virus** inicialmente fueron conocidos como agentes causantes de enfermedad que, gracias a su tamaño diminuto, pasan a través de filtros ultrafinos que incluso pueden retener a las células bacterianas más pequeñas. En la actualidad se sabe que los virus son esencialmente genes rodeados de una cubierta proteica protectora. Sin embargo, estos genes deben entrar en una célula y utilizar la maquinaria celular para expresar sus genes mediante la síntesis de proteínas y replicar sus cromosomas; en muchos casos la célula infectada estalla (lisis) y libera la progenie de virus, que pueden tener acceso a las células vecinas. Muchos de los síntomas de la infección viral reflejan el efecto lítico de los virus. Las úlceras de herpes labial causadas por el virus del herpes simple y las ampollas causadas por el

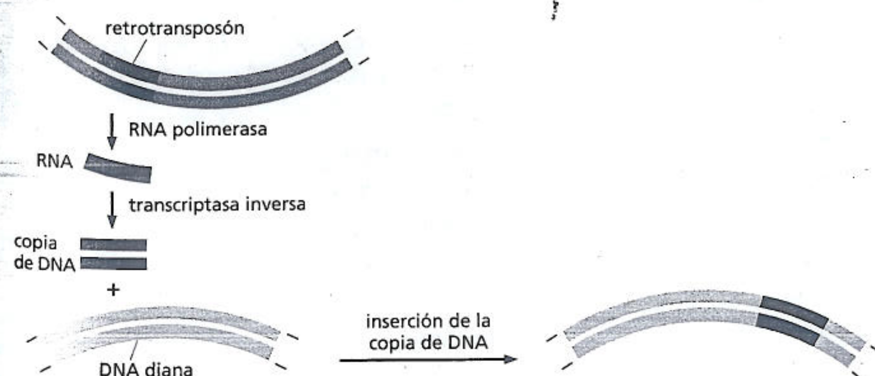


Figura 6-34. Los retrotransposones se mueven mediante un intermediario de RNA. Estos elementos transponibles son transcriptos en primer lugar a un intermediario de RNA. Después se sintetiza una copia de DNA a partir del RNA mediante la transcriptasa inversa. A continuación, la copia de DNA del transposón es insertada en la localización de la diana, que puede ser la misma molécula de DNA del donante o una molécula diferente. El retrotransposón donante permanece en su lugar original, de manera que cada vez que transpongan, se duplicará a sí mismo. Estos elementos genéticos móviles se denominan retrotransposones porque una etapa en la transposición de su información genética fluye en sentido inverso, desde el RNA hacia el DNA.

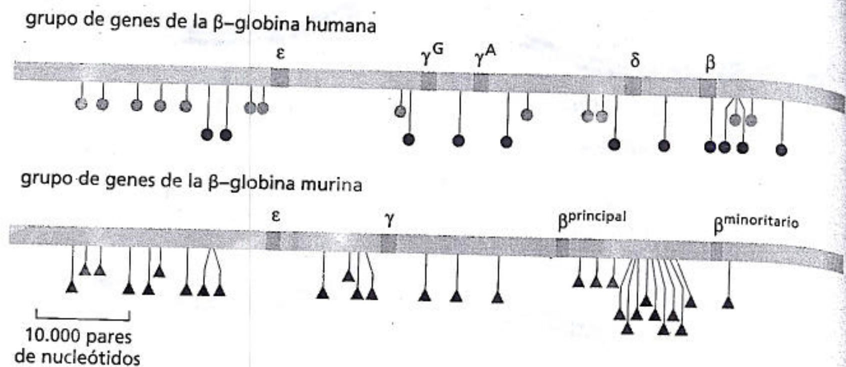


Figura 6-35. Los elementos *L1* y *Alu* se multiplicaron en un alto número de copias en un tiempo evolutivo relativamente reciente. El genoma humano contiene un grupo de cinco genes de la globina *(arriba)*. Cada gen (indicado por una letra griega y en color *anaranjado*) codifica una proteína que transporta oxígeno en la sangre. La región comparable del genoma de ratón *(abajo)* contiene solamente cuatro genes de la globina. Las posiciones de las secuencias *Alu* humanas se indican mediante *círculos verdes* y los elementos *L1* por *círculos rojos*. El genoma de ratón contiene diferentes elementos transponibles: las posiciones de los elementos *B1* (que están relacionadas con las secuencias *Alu* humanas) se representan con *triángulos azules*, y las posiciones de los elementos *L1 murinos* (relacionadas con el *L1* humano) se indican por *triángulos amarillos*. Como las secuencias de DNA de los elementos transponibles del hombre y del ratón son distintas y las posiciones de estos elementos en el grupo del gen de la β–globina difieren mucho en ambas especies, se cree que se acumularon en los genomas de mamíferos en un tiempo evolutivo relativamente reciente. (Cortesía de Ross Hardison y Webb Miller.)

virus de la varicela, por ejemplo, reflejan la muerte localizada de las células cutáneas. Aunque el primer virus que fue descubierto ataca a las células de mamíferos, ahora se reconoce que existen muchos tipos de virus, algunos infectan a las células vegetales, mientras que otros utilizan a las células bacterianas como sus hospedadoras.

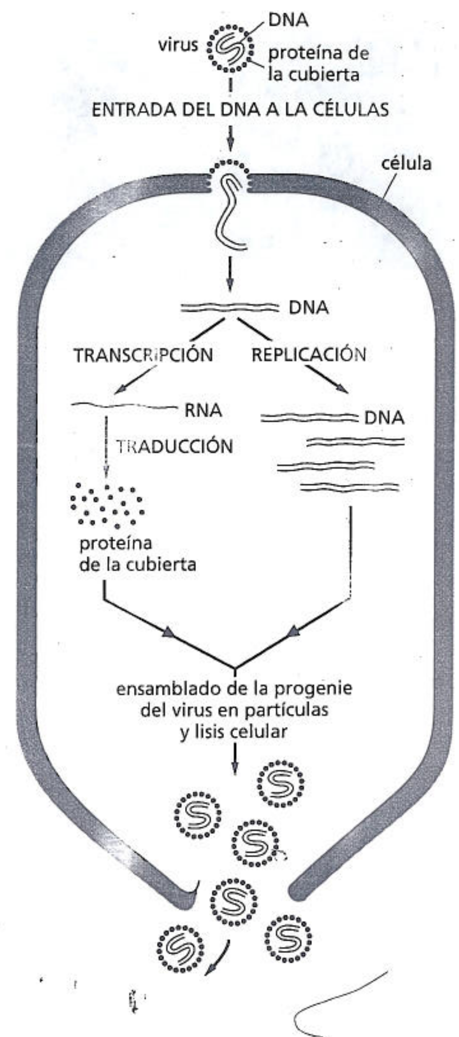
Los genomas virales pueden estar constituidos por DNA o por RNA, y pueden ser de cadena simple o de cadena doble (Cuadro 6-2). La cantidad de DNA o RNA que puede estar empaquetada dentro de una cubierta proteica es limitada, y resulta demasiado pequeña como para codificar muchas enzimas diferentes y otras proteínas que son requeridas para replicar incluso al virus más simple. Por esta razón, los virus deben apoderarse de la maquinaria bioquímica de la célula para reproducirse a sí mismos. Los genomas virales típicamente codifican las proteínas de la cubierta viral, así como las proteínas que atraen a las enzimas del hospedador que replican su genoma (Fig. 6-36).

El virus más simple consiste en una cubierta proteica formada primariamente por muchas copias de una sola cadena polipeptídica que rodea a un genoma pequeño compuesto sólo por tres genes. Los virus más complejos tienen genomas de hasta varios cientos de genes, rodeados de una elaborada cubierta compuesta por muchas proteínas diferentes (Fig. 6-37).

CUADRO 6-2 VIRUS QUE CAUSAN ENFERMEDAD EN SERES HUMANOS

VIRUS	TIPO DE GENOMA	ENFERMEDAD
Virus del herpes simple	DNA de cadena doble	herpes labial recurrente
Virus de Epstein-Barr (EBV)	DNA de cadena doble	mononucleosis infecciosa
Virus varicela-zoster	DNA de cadena doble	varicela y herpes
Virus de la viruela	DNA de cadena doble	viruela
Virus de la hepatitis B	DNA parte de cadena doble, parte de cadena simple	hepatitis sérica
Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)	RNA de cadena simple	síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)
Virus de la influenza tipo A	RNA de cadena simple	enfermedad respiratoria (gripe)
Poliovirus	RNA de cadena simple	parálisis
Rinovirus	RNA de cadena simple	resfriado común
Virus de la hepatitis A	RNA de cadena simple	hepatitis infecciosa
Virus de la hepatitis C	RNA de cadena simple	hepatitis tipo no A, no B
Virus de la fiebre amarilla	RNA de cadena simple	fiebre amarilla
Virus de la rabia	RNA de cadena simple	rabia
Virus de las parotiditis	RNA de cadena simple	parotiditis
Virus del sarampión	RNA de cadena simple	sarampión

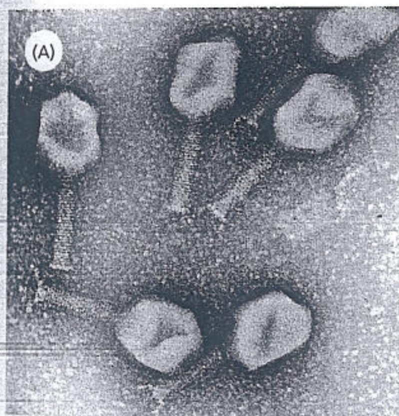
Figura 6-36. Los virus se apropian de la maquinaria de la célula hospedadora para reproducirse. El virus hipotético y simple representado aquí consiste en una pequeña molécula de DNA de doble cadena que codifica un único tipo de proteína de la cubierta viral. Para replicarse, el genoma viral debe entrar en la célula. A esto le sigue la replicación del DNA viral que forma muchas copias. Al mismo tiempo, los genes virales son expresados y sintetizan las proteínas de la cubierta a través de pasos secuenciales de transcripción y traducción, que serán descritas en el capítulo 7 (véase Fig. 7-2). Los genomas virales se ensamblan espontáneamente con las proteínas de la cubierta formando partículas virales nuevas.

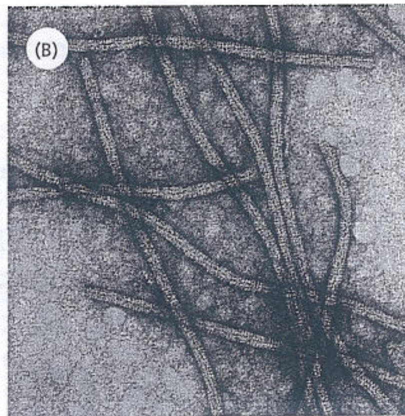


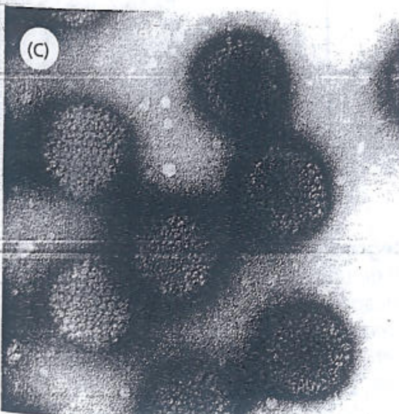
Los retrovirus invierten el flujo normal de la información genética

Aunque hay muchas semejanzas entre los virus bacterianos y eucariontes, un importante tipo de virus –el **retrovirus**– se encuentra solamente en las células eucariontes. En muchos aspectos, los retrovirus se asemejan a los retrotransposones. Una característica clave del ciclo de vida de ambos elementos genéticos es un paso donde el DNA se sintetiza utilizando RNA como un molde (el término *retro* se refiere a la inversión de flujo habitual de la información del DNA al RNA (véase Fig. 7-2) y la enzima que realiza este paso es una *transcriptasa inversa*. El genoma retroviral es una cadena simple de RNA que codifica esta enzima y unas pocas moléculas de la enzima son empaquetados junto con el genoma de RNA en cada partícula viral.

El ciclo vital de los retrovirus se ilustra en la figura 6-38. Cuando el genoma de RNA de cadena simple de los retrovirus entra en la célula, la transcriptasa inversa que lleva consigo produce una cadena de DNA complementario que forma una doble hélice híbrida DNA/RNA. La cadena de RNA es eliminada y la transcripta-







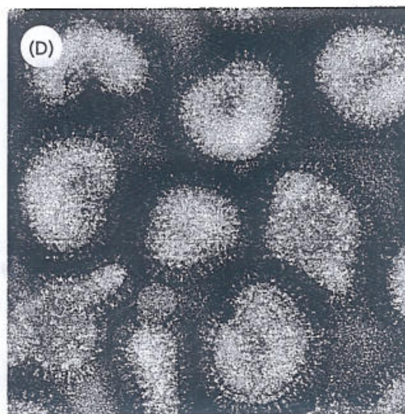


Figura 6-37. Las cubiertas virales adquieren diferentes formas y tamaños. Estas microfotografías electrónicas de partículas virales se muestran en la misma escala. (A) T4 es un virus de DNA de gran tamaño que infecta a las células de *E. coli*. El DNA es almacenado en la cabeza del bacteriófago e inyectado dentro de la bacteria mediante la cola cilíndrica. (B) El virus X de la papa es un virus vegetal que contiene un genoma de RNA. (C) El adenovirus es un virus que contiene DNA que puede infectar a las células humanas. (D) El virus influenza, es un virus de RNA animal de gran tamaño cuya cubierta proteica es posteriormente incluida en una envoltura compuesta por una bicapa lipídica. Las espículas que sobresalen de la envoltura son proteínas virales insertas en la bicapa de la membrana (véase Fig. 6-39). (A, cortesía de James Paulson; B, cortesía de Graham. Hills; C, cortesía de Mei Lie Wong; D, cortesía de R. C. Williams y H. W. Fisher.)

PREGUNTA 6-5

La transcriptasa inversa no corrige a medida que sintetiza el DNA utilizando un molde de RNA. ¿Cuáles piensa usted que son las consecuencias que esto tiene para el tratamiento del sida?

sa inversa (que puede utilizar DNA o RNA como molde) ahora sintetiza una cadena complementaria que produce una doble hélice de DNA. Este DNA luego es insertado o integrado, en un sitio seleccionado al azar en el genoma del hospedador por una enzima *integrasa* codificada por el virus. En este estado el virus está latente: cada vez que la célula hospedadora se divide, pasa una copia del genoma viral integrado, que se conoce como un *provirus*, a sus células progenitoras.

El siguiente paso en la replicación de un retrovirus –que puede ocurrir mucho tiempo después de su integración en el genoma del hospedador– es el copiado del DNA viral integrado en RNA por parte de una RNA polimerasa de la célula hospedadora, que puede producir grandes cantidades de RNA de cadena simple idénticos al genoma infectante original. Los genes virales luego son expresados por la maquinaria de la célula hospedadora produciendo la cubierta proteica, las proteínas de la envoltura y la transcriptasa inversa, ensambladas todas con el genoma de RNA en partículas virales nuevas.

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), el agente causal del SIDA, es un retrovirus. Como sucede con otros retrovirus, el genoma del HIV puede persistir en estado latente como un provirus de DNA insertado en los cromosomas de una célula infectada. Esta capacidad del virus para ocultarse dentro de las células hospedadoras complica cualquier intento de tratar la infección con fármacos antivirales. Pero, como la transcriptasa inversa del HIV no es utilizada por las células, esta enzima constituye uno de los principales objetivos del desarrollo de fármacos contra el sida.

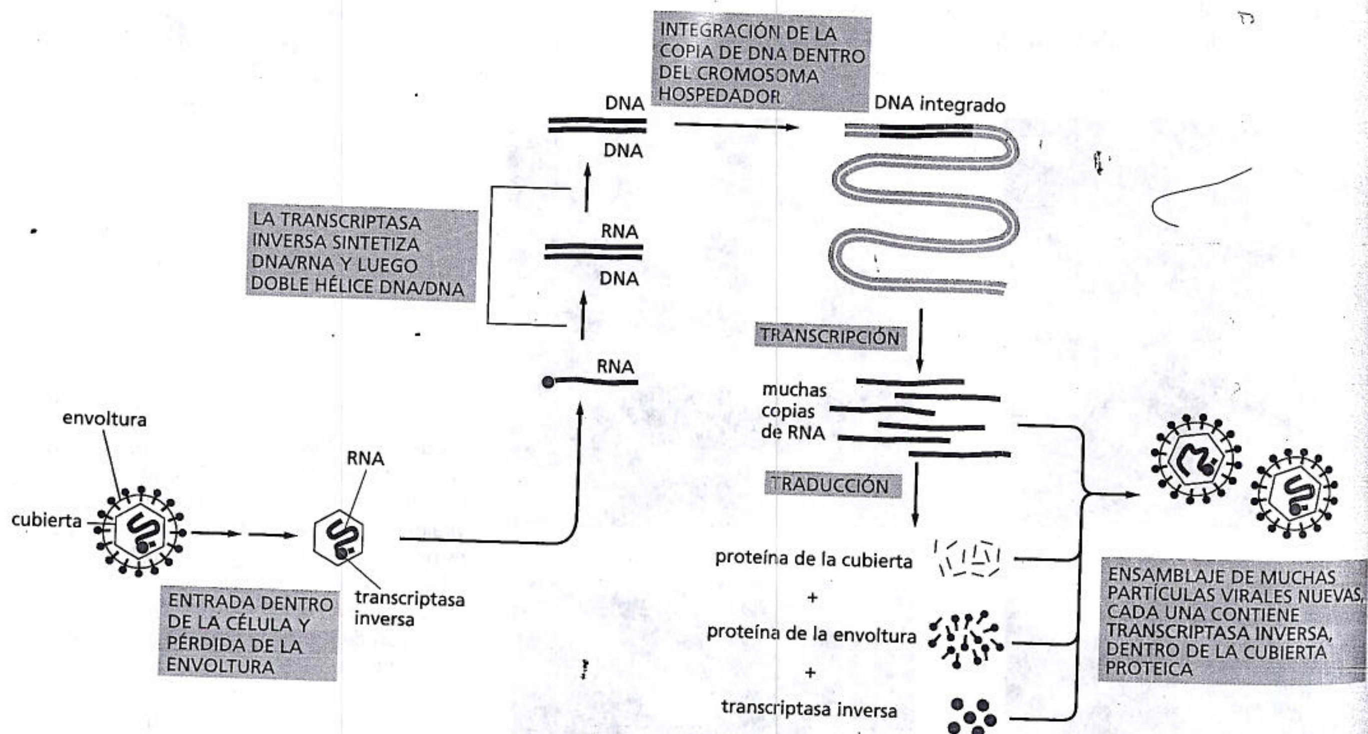


Figura 6-38. El ciclo vital de un retrovirus incluye la transcripción inversa y la integración en el genoma hospedador. El genoma del retrovirus consiste en una molécula de RNA *(azul)* de unos 8.500 nucleótidos. El mismo se empaqueta dentro de una cubierta proteica rodeada por una bicapa lipídica (denomina envoltura) que contiene las proteínas de la envoltura codificada por el virus *(verde)*. La enzima transcriptasa inversa *(círculo rojo)*, codificada en el genoma viral y empaquetada con su RNA, primero sintetiza una copia de DNA de la molécula de RNA viral y luego una segunda cadena de DNA, con la cual genera una copia de DNA de doble cadena del genoma de RNA. La integración de esta doble hélice en el cromosoma del hospedador es catalizada por una enzima *integrasa* codificada por el virus. Esta integración se requiere para la síntesis de nuevas moléculas de RNA viral por parte de la RNA polimerasa de la célula huésped.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La capacidad de una célula para mantener orden en un ambiente caótico depende de la duplicación exacta de la gran cantidad de información genética transportada en su DNA.
- Cada una de las dos cadenas de DNA puede actuar como un molde para la síntesis de la otra cadena. Una doble hélice de DNA porta, por lo tanto, la misma información en cada una de sus cadenas.
- Una molécula de DNA es duplicada (replicada) mediante la polimerización de nuevas cadenas complementarias utilizando cada una de las cadenas viejas de la doble hélice de DNA como molde. Se forman dos moléculas de DNA idénticas que permiten que la información genética sea copiada y pasada de la célula madre a la célula hija, y del progenitor a la descendencia.
- A medida que una molécula de DNA se replica, sus dos cadenas son separadas formando una o más horquillas de replicación con forma de Y. La enzima DNA polimerasa situada en la horquilla establece una nueva cadena de DNA complementario sobre cada cadena progenitora y, de esta manera, da origen a dos nuevas moléculas de doble hélice.
- La DNA polimerasa replica un molde de DNA con fidelidad notable ya que comete menos de un error por cada 10^7 pares de bases leídas. Esta precisión es posible, en parte, por un proceso de corrección en el que la enzima elimina sus propios errores de polimerización a medida que se desplaza a lo largo del DNA.
- Debido a que la DNA polimerasa puede sintetizar DNA nuevo únicamente en una dirección, solo la cadena adelantada en la horquilla de replicación puede ser sintetizada de manera continua. Sobre la cadena retrasada el DNA se sintetiza en un proceso discontinuo de pespunte hacia atrás, que produce fragmentos de DNA cortos, que posteriormente son unidos por la enzima DNA ligasa que produce una cadena de DNA continua.
- La DNA polimerasa es incapaz de comenzar una cadena de DNA nueva. En su lugar, la síntesis de DNA es cebada por una RNA polimerasa, denominada primasa, que produce RNA cortos (cebadores), que son alargados por la DNA polimerasa. Posteriormente son eliminados y reemplazados con DNA.
- La replicación del DNA requiere de la cooperación de muchas proteínas; que forman una maquinaria de replicación multienzimática que cataliza la síntesis de DNA.
- En los eucariontes, una enzima especial que se denomina telomerasa replica al DNA en los extremos de los cromosomas.
- Los errores de copiado poco frecuentes que se deslizan por la maquinaria de replicación del DNA son detectados con las proteínas de reparación de apareamientos erróneos. La precisión global de la replicación del DNA, incluida la reparación de apareamientos erróneos, es de un error cada 10^9 nucleótidos copiados.
- El daño del DNA es causado por reacciones químicas ineludibles y es reparado por una variedad de enzimas que reconocen al DNA dañado y escinden un tramo corto de la cadena de DNA que contiene el defecto. El DNA perdido es nuevamente sintetizado por una DNA polimerasa de reparación que utiliza la cadena no dañada como molde.
- La unión de extremos no homólogos permite la reparación rápida de las rupturas de DNA de doble cadena; el proceso suele alterar la secuencia de DNA en el sitio de la reparación.
- La recombinación homóloga puede reparar fielmente las rupturas de DNA de cadena doble utilizando una secuencia de cromosomas homólogos como una guía. Durante la meiosis, un proceso de recombinación homóloga relacionado causa una reorganización de información genética que crea moléculas de DNA con secuencias nuevas.
- Los elementos genéticos móviles o transposones, se mueven de un lugar a otro en los genomas de sus hospedadores, proporcionando una fuente de variación genética.
- Casi la mitad del genoma humano consiste en elementos genéticos móviles. Dos clases de estos elementos se han multiplicado en números especialmente alto de copias.

- Los virus son un poco más que genes empaquetados en cubiertas de proteicas protectoras. Requieren de las células hospedadoras para reproducirse.
- Algunos virus tienen RNA en lugar de DNA como su genoma. Un grupo de virus de RNA –los retrovirus– deben copiar sus genomas de RNA en DNA para poder replicarse.

PALABRAS CLAVE

cadena adelantada
cadena retrasada
corrección
DNA polimerasa
elemento genético móvil
fragmento de Okazaki
horquilla de replicación
molde
mutación
origen de replicación
recombinación homóloga
reparación del DNA
replicación del DNA
retrotransposón
retrovirus
RNA (ácido ribonucleico)
telomerasa
transcriptasa inversa
transposón
unión de extremos no homólogos
virus

PREGUNTAS

PREGUNTA 6-6

Las enzimas de reparación de apareamientos erróneos del DNA preferentemente reparan las bases sobre la cadena de DNA recién sintetizada utilizando la cadena de DNA antigua como un molde. Si los apareamientos erróneos fueran simplemente reparados sin considerar qué cadena actúa como molde, ¿podría esto reducir los errores de replicación? Explique su respuesta.

PREGUNTA 6-7

Suponga que una mutación afecta a una enzima requerida para reparar el daño del DNA causado por la pérdida de las bases purina. Esta mutación causa la acumulación de cerca de 5.000 mutaciones en el DNA de cada una de nuestras células por día. Como la diferencia promedio en la secuencia del DNA entre los seres humanos y los chimpancés es alrededor del 1%, ¿cuánto tiempo le tomaría transformarse en un mono? ¿Qué es lo incorrecto en este planteo?

PREGUNTA 6-8

¿Cuáles de los siguientes enunciados son correctos? Explique sus respuestas.

A. La horquilla de replicación bacteriana es asimétrica porque contiene dos moléculas de DNA polimerasa estructuralmente distintas.

B. Los fragmentos de Okazaki son eliminados por una nucleasa que degrada el RNA.

C. La tasa de error de replicación del DNA se reduce mediante la función correctora de la DNA polimerasa y por la reparación de apareamientos erróneos del DNA.

D. En ausencia de reparación del DNA, los genes son inestables.

E. Ninguna de las bases aberrantes formadas por las desaminación se producen de manera natural en el DNA.

F. El cáncer es el resultado de la acumulación de mutaciones en las células somáticas.

PREGUNTA 6-9

La velocidad de replicación del DNA en una horquilla de replicación es de unos 100 nucleótidos por segundo en las células humanas. ¿Cuál es la cantidad mínima de orígenes de replicación que una célula humana debe tener para replicar su DNA una vez cada 24 horas? Recuerde que una célula humana contiene dos copias del genoma humano, una heredada de la madre y la otra del padre, y cada una consta de 3×10^9 pares de nucleótidos.

PREGUNTA 6-10

Observe cuidadosamente las estructuras de los compuestos que se muestran en la figura P6-10. Uno u otro de los dos compuestos es agregado a una reacción de replicación del DNA.

A. ¿Qué pasaría si el compuesto A fuese agregado en gran exceso respecto de la concentración de la desoxicitocina trifosfato disponible (dCTP)?

B. ¿Qué sucedería si fuera agregado al 10% de concentración de dCTP disponible?

C. ¿Qué efectos se deben esperar si el compuesto B fuese agregado en las mismas condiciones?

PREGUNTA 6-11

El material genético de un organismo hipotético es indistinguible desde el punto de vista estructurala partir del DNA convencional. Sorpresivamente, los análisis revelan que el DNA es sintetizado a partir de nucleósidos trifosfatos que contienen grupos 5′ hidroxilos libres y grupos tri-

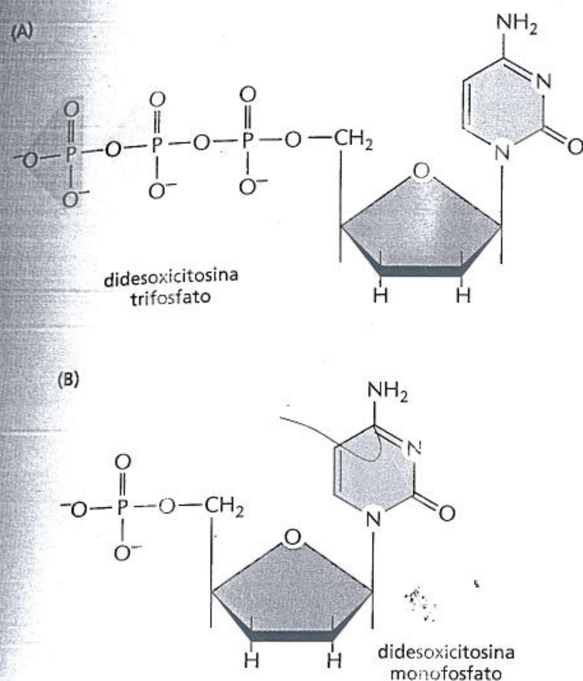


Figura P6-10.

fosfato en la posición 3′. ¿De qué modo diferirá la DNA polimerasa de este organismo de la de las células normales? ¿Puede todavía tener actividad de corrección?

PREGUNTA 6-12

La figura P6-12 muestra una instantánea de una horquilla de replicación en la que el cebador de RNA recién se agregó a la cadena retrasada. Utilizando este esquema como guía, esboce la vía del DNA a medida que el siguiente fragmento de Okazaki es sintetizado. Indique la abrazadera deslizante y la proteína de unión a cadena simple cuando sea apropiado.

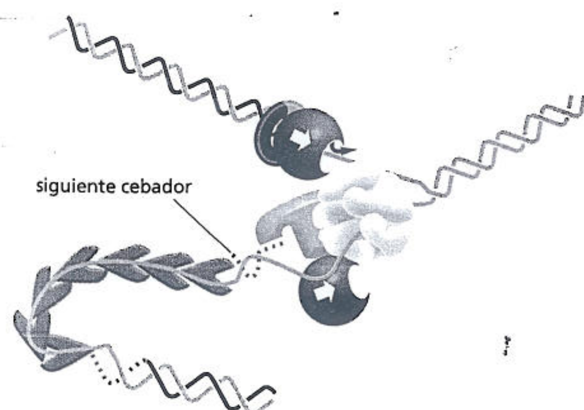


Figura P6-12.

PREGUNTA 6-13

¿Aproximadamente, cuántos enlaces de alta energía se utilizan para replicar un cromosoma bacteriano? Comparada con su propio peso seco de 10^{-12} g, ¿cuánta glucosa necesita una bacteria para proporcionar suficiente energía para copiar su DNA una vez? La cantidad de pares de nucleótidos en el cromosoma bacteriano es 3×10^6. La oxidación de una molécula de glucosa genera cerca de 30 enlaces de fosfato de alta energía. El peso molecular de la glucosa es de 180 g/mol (recordar de la figura 2-3 que un mol consiste en 6×10^{23} moléculas).

PREGUNTA 6-14

¿Qué es incorrecto en la siguiente afirmación, si lo es?: "La estabilidad del DNA de las células reproductoras y en las células somáticas son esenciales para la supervivencia de una especie." Explique su respuesta.

PREGUNTA 6-15

Un tipo común de error en el DNA es producido por una reacción espontánea denominada *desaminación* en la cual una base nucleotídica pierde un grupo amino (NH_2), que es remplazado por un grupo ceto (C=O) mediante la reacción general que se muestra en la figura P6-15. Escriba las estructuras de las bases A, G, C, T y U, y calcule los productos que se formarán por desaminación. Si observa los productos de esta reacción y recuerda que en la célula necesitarán ser reconocidos y reparados, ¿puede proponer una explicación de por qué el DNA no contendrá uracilo?

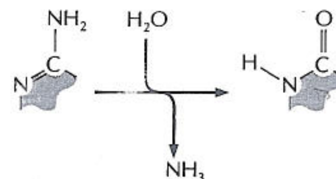


Figura P6-15.

PREGUNTA 6-16

A. Explique por qué los telómeros y la telomerasa son necesarios para la replicación de los cromosomas eucariontes pero no para la replicación de un cromosoma bacteriano circular. Dibuje un diagrama para ilustrar su explicación.

B. ¿Se necesitarían aún los telómeros y las telomerasas para completar la replicación del cromosoma eucarionte si la DNA primasa siempre estableciese el cebador de RNA en el extremo 3′ del molde para la cadena retrasada?

PREGUNTA 6-17

Analice la siguiente afirmación: "Los virus existen en la zona gris de la vida: fuera de las células son simplemente ensamblados muertos de moléculas; en el interior de las células, sin embargo, están vivos".

PREGUNTA 6-18

Muchos transposones se mueven dentro de un genoma mediante mecanismos replicativos (como los que se muestran en las figuras 6-33 y 6-34). Así aumentan la cantidad de copias en cada transposición. Aunque los acontecimientos individuales de transposición son muy poco frecuentes, muchos transposones se hallan en múltiples copias en los genomas. ¿Qué evita que los transposones invadan completamente los genomas del hospedador?

PREGUNTA 6-19

Describa las consecuencias que podrían surgir si un cromosoma eucarionte

A. Contiene solamente un origen de replicación:

(i) En el centro exacto del cromosoma;

(ii) En un extremo del cromosoma.

B. Carece de uno o de ambos telómeros.

C. No tiene centrómero.

Asuma que el cromosoma tiene una longitud de 150 millones de nucleótidos, un tamaño típico para un cromosoma animal, y que la replicación del DNA en las células animales avanza a razón de unos 100 nucleótidos por segundo.

CAPÍTULO SIETE

7

Del DNA a la proteína: cómo leen el genoma las células

Una vez determinada la estructura del DNA (ácido desoxirribonucleico) a principios de la década de los cincuenta, resultó evidente que la información hereditaria de las células está codificada en la secuencia de nucleótidos del DNA. En el capítulo 6 se analizó cómo puede ser transmitida esta información sin cambios de una célula a sus descendientes mediante el proceso de replicación del DNA. Pero ¿cómo hace la célula para decodificar y utilizar esta información? ¿Cómo es que las instrucciones genéticas escritas en un alfabeto de sólo cuatro "letras" los cuatro nucleótidos diferentes del DNA– rigen la formación de una bacteria, una mosca de la fruta o de un ser humano? Todavía hay mucho que aprender acerca del modo en que la información almacenada en los genes de un organismo produce, incluso, la bacteria unicelular más simple, para no mencionar cómo dirige el desarrollo de organismos multicelulares complejos como el hombre. Sin embargo, se ha descifrado el código del DNA y se puede leer el lenguaje de los genes.

Aun antes que el código del DNA hubiese sido interpretado, se sabía que la información contenida en los genes dirigía, de algún modo, la síntesis proteica. Las proteínas son los principales componentes de las células, y no sólo determinan su estructura, sino también sus funciones. En capítulos previos, se mencionaron algunos de las miles de clases de proteínas que pueden producir las células. En el capítulo 4, se observó que las propiedades y la función de una molécula proteica son determinadas por el orden lineal la *secuencia*– de las diferentes subunidades de aminoácidos de su cadena polipeptídica: cada tipo de proteína tiene una secuencia de aminoácidos singular, y esta secuencia impone cómo se plegará la cadena y originará una molécula con una forma y con propiedades químicas características. Por lo tanto, las instrucciones genéticas transportadas por el DNA deben especificar las secuencias de aminoácidos de las proteínas. En este capítulo, se expondrá cómo ocurre esto exactamente.

El DNA no dirige, por sí mismo, la síntesis de proteínas, sino que actúa más bien como un gerente y delega las múltiples tareas a un equipo de trabajadores.

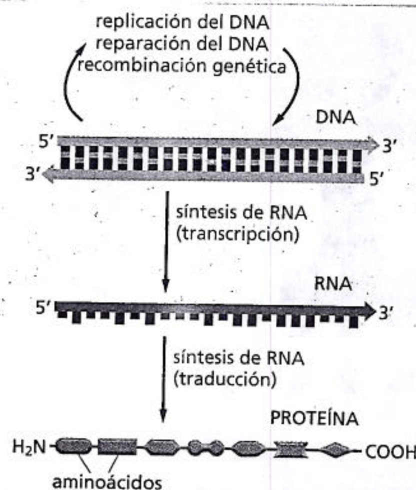


Figura 7-1. La información genética controla la síntesis proteica. El flujo de la información genética del DNA al RNA (transcripción) y del RNA a la proteína (traducción) se produce en todas las células vivas.

Cuando la célula necesita una determinada proteína, la secuencia de nucleótidos del fragmento apropiado de la molécula de DNA inmensamente larga de un cromosoma es copiada, primero, en otro tipo de ácido nucleico, el *RNA* (*ácido ribonucleico*). Después, estas copias de RNA de segmentos cortos del DNA dirigen la síntesis proteica. En cada célula de nuestro organismo, se producen muchos miles de estas conversiones de DNA a proteína por segundo. En consecuencia, la información genética de las células fluye del DNA al RNA, a la proteína (Fig. 7-1). Todas las células, de las bacterias a los seres humanos, expresan su información genética de este modo, un principio tan fundamental que ha sido denominado el *dogma central* de la biología molecular.

En este capítulo, se explican los mecanismos mediante los cuales las células copian DNA en RNA (un proceso denominado *transcripción*) y luego utilizan la información del RNA para fabricar proteínas (un proceso denominado *traducción*). También se presentan algunas variaciones clave de este esquema básico. La principal de ellas es el *corte y empalme* del RNA, un proceso en el que los transcriptos de RNA son cortados y vueltos a unir antes de que las células eucariontes los traduzcan a proteínas. Estas modificaciones pueden cambiar el mensaje transmitido por las moléculas de RNA y, por lo tanto, son cruciales para comprender cómo las células decodifican el genoma. En la última sección de este capítulo, se considera la manera en que el esquema de almacenamiento de la información, transcripción y traducción podría haberse originado a partir de sistemas más simples en los primeros estadios de la evolución celular.

DEL DNA AL RNA

La transcripción y la traducción son los recursos mediante los cuales las células leen, o *expresan*, sus instrucciones genéticas: sus *genes*. Se pueden crear muchas copias de RNA idénticas a partir del mismo gen, y cada molécula de RNA puede dirigir la síntesis de muchas moléculas proteicas idénticas. Como cada célula contiene sólo una o dos copias de un gen particular, esta amplificación sucesiva permite que las células sinteticen grandes cantidades de proteína siempre que sea necesario. Al mismo tiempo, cada gen puede ser transcripto y traducido con diferente eficiencia, lo que le otorga a la célula una manera de producir grandes cantidades de algunas proteínas y cantidades mínimas de otras (Fig. 7-2). Además, como se verá en el capítulo 8, una célula puede modificar (o regular) la expresión de cada uno de sus genes de acuerdo con las necesidades del momento. En esta sección, se analiza la formación de RNA, el primer paso de la *expresión génica*.

Fragmentos de la secuencia de DNA son transcriptos a RNA

El primer paso que da una célula en la lectura de sus muchos miles de genes es copiar la secuencia de ese gen en RNA. El proceso se denomina **transcripción** por-

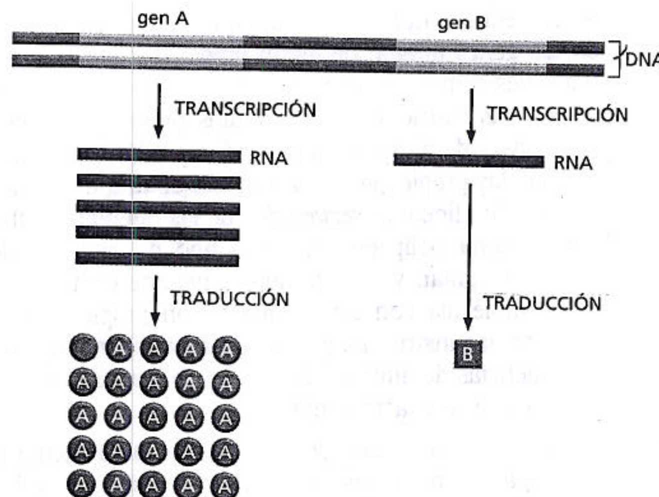


Figura 7-2. Los genes se pueden expresar con diferente eficiencia. El gen A se transcribe y se traduce mucho más eficientemente que el gen B. Esto permite que la cantidad de proteína A de una célula sea mucho más alta que la de proteína B. En esta figura y en figuras posteriores, los fragmentos no transcriptos del DNA se representan en *gris*.

que la información, aunque copiada en otra forma química, se escribe, aun así, esencialmente en el mismo lenguaje: el lenguaje de los nucleótidos. Al igual que el DNA, **el RNA** es un polímero lineal compuesto por cuatro tipos distintos de subunidades nucleotídicas unidas mediante enlaces fosfodiéster (Fig. 7-3). Desde el punto de vista químico, difiere del DNA en dos aspectos: (1) los nucleótidos del RNA son *ribonucleótidos*, es decir, contienen el azúcar ribosa (de ahí el nombre de ácido *ribo*nucleico) en lugar de desoxirribosa; (2) si bien el RNA contiene, como el DNA, las bases adenina (A), guanina (G) y citosina (C), tiene uracilo (U) en lugar de la timina (T) hallada en el DNA. Como U, al igual que T, puede aparear bases mediante enlaces de hidrógeno con A (Fig. 7-4), las propiedades de apareamiento de bases complementarias descritas para el DNA en el capítulo 5 también se aplican al RNA.

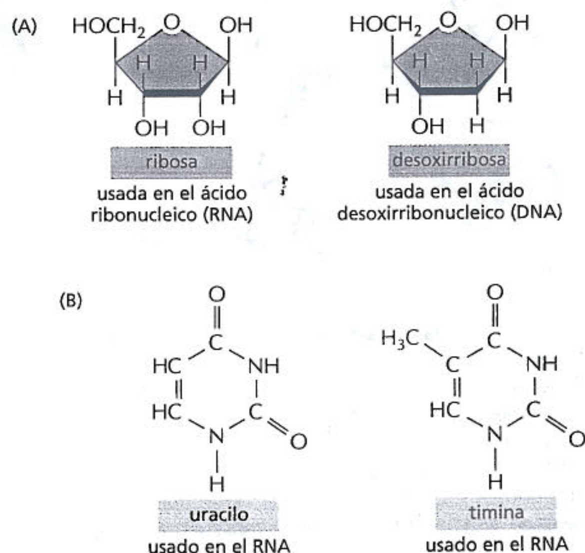
PREGUNTA 7-1
Considere la expresión "dogma central", que hace referencia al flujo de información genética del DNA al RNA y de éste a la proteína. ¿La palabra "dogma" es apropiada en este contexto?

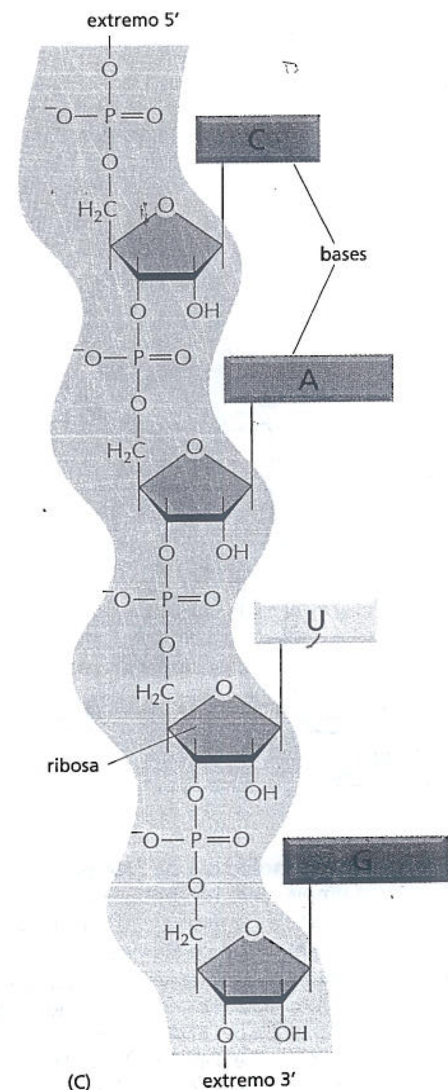
Aunque sus diferencias químicas son pequeñas, el DNA y el RNA difieren de una manera bastante notable en la estructura general. Mientras que el DNA siempre está presente en las células como una hélice de doble cadena, el RNA es monocatenario. Esta diferencia tiene consecuencias funcionales importantes. Como la cadena del RNA es única, éste se puede plegar en una variedad de formas, como se pliega una cadena polipeptídica adquiriendo la forma final de una proteína (Fig. 7-5); el DNA bicatenario no se puede plegar de este modo. Como se verá más adelante en este capítulo, la capacidad de plegarse en una forma tridimensional compleja permite que el RNA lleve a cabo funciones en las células, además de transmitir información entre el DNA y la proteína. Mientras que el DNA actúa sólo como un depósito de información, el RNA presenta diferentes variedades que tienen funciones estructurales e, incluso, catalíticas.

La transcripción produce RNA complementario de una cadena de DNA

Todo el RNA de una célula es producido por transcripción, un proceso que tiene ciertas similitudes con la replicación del DNA (véase Cap. 6). La transcripción comienza con la apertura y el desenrollamiento de un pequeño fragmento de la

Figura 7-3. La estructura química del RNA difiere levemente de la del DNA. (A) El RNA contiene el azúcar ribosa, que se diferencia de la desoxirribosa, el azúcar utilizado en el DNA, por la presencia de un grupo –OH adicional. (B) El RNA contiene la base uracilo, que difiere de la timina, la base equivalente del DNA, por la ausencia de un grupo $-CH_3$. (C) Un fragmento corto de RNA. La unión química entre nucleótidos del RNA es la misma que la observada en el DNA.





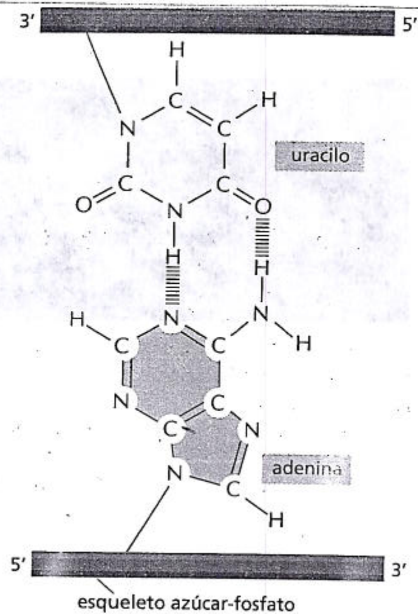
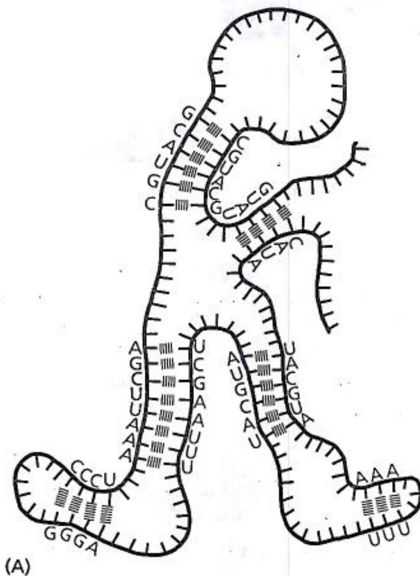


Figura 7-4. El uracilo forma un par de bases con la adenina. Pese a la ausencia de un grupo metilo, el uracilo tiene las mismas propiedades de apareamiento de bases que la timina. Así, los pares de bases U-A se asemejan mucho a los pares de bases T-A (véase Fig. 5-6A).

doble hélice de DNA lo que expone las bases de cada una de sus cadenas. Después, una de las dos cadenas de la doble hélice de DNA actúa como un molde para la síntesis de RNA. Se agregan uno por uno los ribonucleótidos a la cadena de RNA en crecimiento y, como en la replicación del DNA, la secuencia de nucleótidos de la cadena de RNA es determinada por el apareamiento de bases complementarias con el molde de DNA. Cuando hay una buena correspondencia, el ribonucleótido que ingresa se une en forma covalente a la cadena de RNA en crecimiento mediante una reacción catalizada enzimáticamente. Por lo tanto, la cadena de RNA producida por la transcripción el *transcripto*– se alarga de a un nucleótido por vez y tiene una secuencia de nucleótidos exactamente complementaria de la cadena de DNA utilizada como molde (Fig. 7-6).

Sin embargo, la transcripción difiere de la replicación del DNA en varios aspectos importantes. A diferencia de una cadena de DNA recién formada, la cadena de RNA no se mantiene unida por enlaces de hidrógeno a la cadena molde de DNA. Por el contrario, justo por detrás de la región donde se añaden los ribonucleótidos, la cadena de RNA es desplazada, y se vuelve a formar la hélice de DNA. Por esta razón, y porque se transcribe sólo una cadena de la molécula de DNA, las moléculas de RNA son monocatenarias. Además, como los RNA son copias de sólo una región limitada de DNA, estas moléculas son mucho más cortas que las moléculas de DNA; las moléculas de DNA en un cromosoma humano pueden tener hasta 250 millones de pares de nucleótidos de longitud, mientras que la mayoría de los RNA no pasan de unos pocos miles de nucleótidos de longitud, y muchos son mucho más cortos.

Las enzimas que realizan la transcripción se denominan **RNA polimerasas**. Como la DNA polimerasa que lleva a cabo la replicación del DNA (véase Cap. 6), las RNA polimerasas catalizan la formación de los enlaces fosfodiéster que unen a los nucleótidos entre sí y forman el esqueleto azúcar-fosfato de la cadena de RNA. La RNA polimerasa se mueve en forma escalonada a lo largo del DNA y desenrolla la hélice del DNA justo por delante exponiendo una nueva región de la cadena



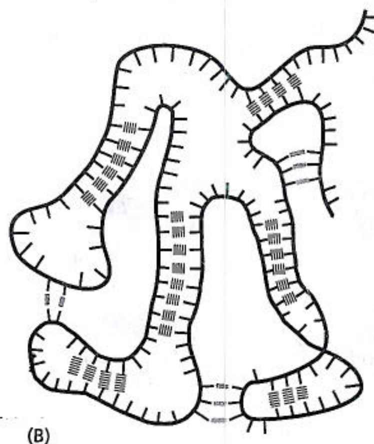




Figura 7-5. Las moléculas de RNA pueden formar pares de bases intramoleculares y plegarse en estructuras específicas. El RNA es de cadena simple, pero con frecuencia contiene tramos cortos de nucleótidos que pueden aparear bases con secuencias complementarias halladas en otra parte de la misma molécula. Estas interacciones, junto con las interacciones de apareamientos de bases "no convencionales", permiten que una molécula de RNA adopte una estructura tridimensional que está determinada por su secuencia de nucleótidos. (A) Esquema de una hipotética estructura de RNA plegada que muestra sólo interacciones de pares de bases convencionales (es decir, de Watson-Crick); (B) la misma estructura hipotética con interacciones de pares de bases convencionales (*rojo*) y no convencionales (p. ej., A-G) (*verde*); (C) estructura de una molécula real de RNA que interviene en el corte y empalme del RNA. Cada una de las interacciones de pares de bases convencionales es indicada por un "peldaño" en la doble hélice. Las bases en otras configuraciones se representan por peldaños rotos. Véase una vista adicional de la estructura del RNA en la Película 7.1.

molde produciéndose el apareamiento de bases complementarias. De este modo, la cadena de RNA en crecimiento se extiende de a un nucleótido por vez en la dirección 5´– 3´ (Fig. 7-7). La enzima utiliza trifosfatos de ribonucleósidos (ATP, CTP, UTP y GTP), cuyos enlaces de alta energía aportan la energía que impulsa el progreso de la reacción (véase Fig. 6-10).

La liberación casi inmediata de la cadena de RNA del DNA a medida que es sintetizada significa que se pueden producir muchas copias de RNA a partir del mismo gen en un tiempo relativamente breve; la síntesis del RNA siguiente se suele iniciar antes de que se haya completado el primer RNA (Fig. 7-8). Un gen de mediano tamaño (p. ej., 1.500 pares de nucleótidos) requiere alrededor de 50 segundos para que una molécula de RNA polimerasa lo transcriba (Película 7.2). En un momento dado, podría haber hasta 15 polimerasas desplazándose a gran velocidad a lo largo de este tramo aislado de DNA, pisándose los talones, lo que permite que se sinteticen más de 1.000 transcriptos en una hora. Sin embargo, para la mayor parte de los genes, el nivel de transcripción es mucho menor que éste.

Aunque la RNA polimerasa cataliza, en esencia, la misma reacción química que la DNA polimerasa, hay algunas diferencias importantes entre las dos enzimas. La primera y la más obvia, la RNA polimerasa cataliza la unión de ribonucleótidos, no de desoxirribonucleótidos. La segunda, a diferencia de la DNA polimerasa que interviene en la replicación del DNA, la RNA polimerasa puede comenzar una cadena de RNA sin un cebador. Esta diferencia puede existir porque la transcripción no necesita ser tan exacta como la replicación del DNA; a diferencia del DNA, el RNA no es utilizado como una forma de depósito permanente de información genética en las células, por lo que los errores en los transcriptos de RNA tienen consecuencias relativamente menores. Las RNA polimerasas producen aproximadamente un error cada 10^4 nucleótidos copiados en RNA, mientras que la tasa de error de la DNA polimerasa es de alrededor de uno cada 10^7 nucleótidos.

En las células se producen distintos tipos de RNA

La enorme mayoría de los genes transportados en el DNA de una célula especifican la secuencia de aminoácidos de las proteínas, y las moléculas de RNA que son copiadas de estos genes –que en última instancia, dirigen la síntesis de proteínas– se denominan colectivamente **RNA mensajero (mRNA)**. En los eucariontes, cada mRNA suele transportar información transcripta de sólo un gen, que codifica una sola proteína; en las bacterias, a menudo se transcribe un grupo de genes adyacentes a un solo mRNA que, por lo tanto, transporta la información de varias proteínas diferentes.

En cambio, el producto final de otros genes es el propio RNA (cuadro 7-1). Como se verá en secciones posteriores de este capítulo, estos RNA no mensajeros, al

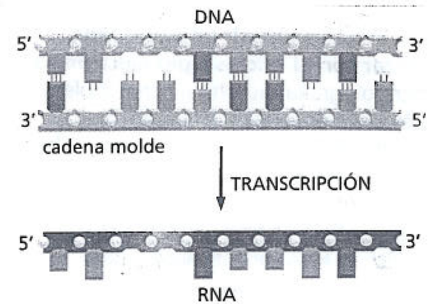


Figura 7-6. La transcripción produce un RNA complementario de una cadena de DNA. La cadena de DNA que no es molde (la cadena *superior* en este ejemplo) a veces se denomina *cadena codificadora* porque su secuencia es equivalente al producto del RNA.

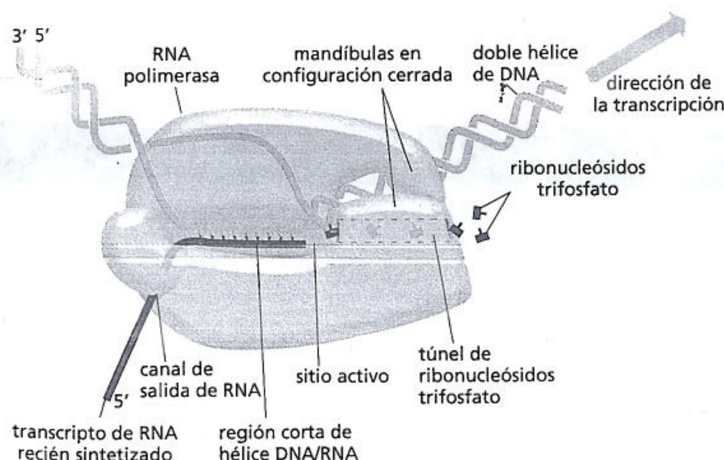


Figura 7-7. El DNA es transcripto por la enzima RNA polimerasa. La RNA polimerasa (*celeste*) se desplaza en forma escalonada a lo largo del DNA y desenrolla la hélice de DNA por delante de ella. A medida que avanza, la polimerasa agrega uno a uno nucleótidos (*formas "T" pequeñas*) a la cadena de RNA en el sitio de polimerización utilizando como molde una cadena de DNA expuesta. El transcripto de RNA resultante es, por lo tanto, monocatenario y complementario de una de las dos cadenas de DNA. A medida que se mueve por el molde de DNA, la polimerasa desplaza el RNA recién formado, lo que permite que las dos cadenas de DNA situadas por detrás de la polimerasa se vuelvan a enrollar. En consecuencia, se forma sólo transitoriamente una corta región de una hélice híbrida de DNA/RNA (de alrededor de mueve nucleótidos de longitud), lo que hace que una "ventana" de la hélice DNA/RNA se mueva a lo largo del DNA con la polimerasa (Película 7.2).

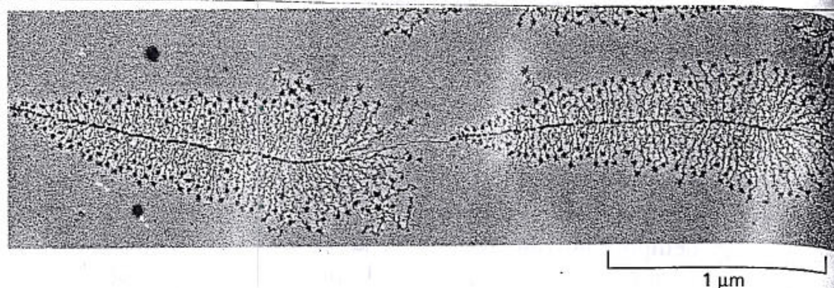


Figura 7-8. La transcripción se puede visualizar con el microscopio electrónico. La microfotografía muestra muchas moléculas de RNA polimerasa transcribiendo simultáneamente dos genes adyacentes. Las moléculas de la RNA polimerasa son visibles como una serie de puntos a lo largo del DNA con los transcriptos (hebras finas) unidos a ellas. Las moléculas de RNA (denominadas rRNA) transcriptas a partir de los genes que se muestran en este ejemplo no son traducidas en proteínas, sino utilizadas directamente como componentes de los ribosomas, las maquinarias donde tiene lugar la traducción. Se cree que las partículas del extremo 5′ (el extremo libre) de cada transcripto de rRNA son proteínas ribosómicas que se han ensamblado sobre el rRNA. (Cortesía de Ulrico Scheer).

igual que las proteínas, actúan como componentes reguladores, estructurales y enzimáticos de las células, y desempeñan papeles clave en la traducción del mensaje genético a proteínas. El *RNA ribosómico* (*rRNA*) forma la parte central de los ribosomas, en los que se traduce el mRNA a proteína, y el *RNA de transferencia* (*tRNA*) forma los adaptadores que seleccionan aminoácidos y los retienen en el sitio adecuado del ribosoma para su incorporación a la proteína. Otros RNA pequeños, denominados *micro-RNA* (*miRNA*), actúan como reguladores clave de la expresión génica eucarionte, como se analiza en el capítulo 8.

En el sentido más amplio, el término **expresión génica** hace referencia al proceso por el cual la información codificada en una secuencia de DNA es traducida a un producto que ejerce algún efecto sobre una célula o un organismo. En los casos en los que el producto final del gen es una proteína, la expresión génica comprende tanto la transcripción como la traducción. En cambio, cuando el producto final de un gen es una molécula de RNA, la expresión génica no requiere traducción.

PREGUNTA 7-2
En la microfotografía electrónica de la figura 7-8, ¿las moléculas de RNA polimerasa se desplazan de derecha a izquierda o de izquierda a derecha? ¿Por qué los transcriptos de RNA son mucho más cortos que el DNA que los codifica?

Las señales en el DNA le dicen a la RNA polimerasa dónde comenzar y dónde terminar

La iniciación de la transcripción es un proceso especialmente crítico porque es el punto principal en el que una célula puede seleccionar qué proteínas o qué RNA se van a producir y a qué velocidad. Para iniciar la transcripción, la RNA polimerasa debe ser capaz de reconocer el comienzo de un gen y de unirse firmemente al DNA en este sitio. El modo en que las RNA polimerasas reconocen el sitio de inicio de la transcripción es algo diferente en bacterias y eucariontes. Como la situación en las bacterias es más simple, la describiremos primero.

Cuando una RNA polimerasa choca en forma aleatoria con un fragmento de DNA, se adhiere a él débilmente y, después, se desliza con rapidez a lo largo de la cadena. La enzima sólo se fija de manera estrecha después que ha encontrado una región denominada **promotor**, que contiene una secuencia de nucleótidos que indican el punto de inicio para la síntesis de RNA. Una vez que la RNA polimerasa alcanza el promotor y se une estrechamente al DNA, la enzima abre la doble hélice justo por delante de ella para exponer los nucleótidos de cada cadena de un tramo breve de DNA (Fig. 7-9). Luego, una de las dos cadenas de DNA expuestas actúa como un molde para el apareamiento de bases complementarias con los

CUADRO 7-1 TIPOS DE RNA PRODUCIDOS EN LAS CÉLULAS

TIPO DE RNA	FUNCIÓN
mRNA	Codificar proteínas
rRNA	Formar el centro del ribosoma y catalizar la síntesis proteica
miRNA	Regular la expresión génica
tRNA	Actuar como adaptadores entre el mRNA y los aminoácidos durante la síntesis de proteínas
Otros RNA pequeños	Utilizados en el corte y empalme del pre-mRNA, el mantenimiento de los telómeros y muchos otros procesos

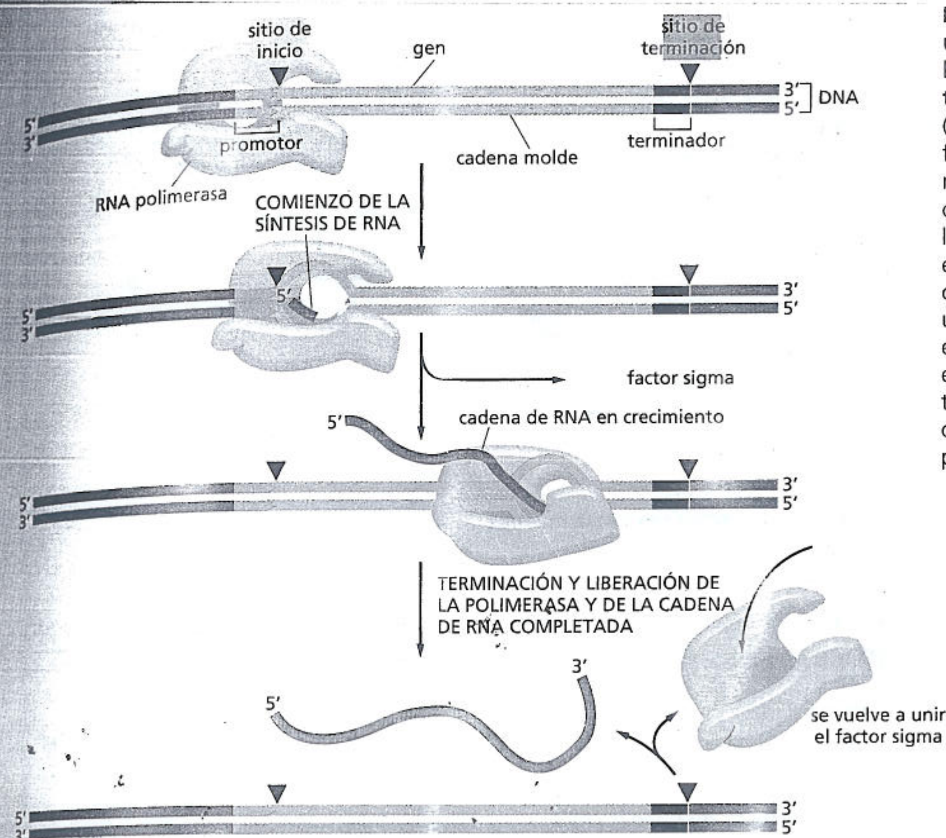


Figura 7-9. Las señales de la secuencia de un gen le informan a la RNA polimerasa bacteriana dónde iniciar y detener la transcripción. La RNA polimerasa bacteriana (*celeste*) contiene una subunidad denominada factor sigma (*amarillo*) que reconoce al promotor (*verde*) del DNA. Una vez que ha comenzado la transcripción, el factor sigma es liberado, y la polimerasa continúa sintetizando el RNA sin éste. La elongación de la cadena continúa hasta que la polimerasa encuentra una señal de terminación (*roja*) en el DNA. En este punto, la enzima se detiene y libera tanto el DNA molde como el transcripto recién sintetizado. Luego, la polimerasa se vuelve a asociar con un factor sigma libre y busca a otro promotor para reanudar el proceso.

ribonucleótidos que ingresan, dos de los cuales son unidos entre sí por la polimerasa que inicia la cadena de RNA. La elongación de la cadena continúa hasta que la enzima encuentra una segunda señal en el DNA, el *terminador* (o sitio de terminación), donde la polimerasa se detiene y libera el molde de DNA y la cadena de RNA recién sintetizada (véase Fig. 7-9).

Una subunidad de la polimerasa bacteriana, denominada *factor sigma* (σ), es fundamentalmente responsable de reconocer la secuencia del promotor en el DNA. Una vez que la polimerasa se ha adherido al DNA en este sitio y ha sintetizado alrededor de 10 nucleótidos de RNA, el factor sigma es liberado, lo que permite que la polimerasa avance y continúe transcribiendo sin éste. Después de que la polimerasa es liberada en el sitio de terminación, se vuelve a asociar con un factor sigma libre y busca un promotor, donde puede comenzar otra vez el proceso de transcripción.

La proteína polimerasa puede reconocer al promotor, aunque el DNA esté en su forma de doble hélice, al hacer contactos específicos con las porciones de las bases que están expuestas en el exterior de la hélice. La figura 7-10 presenta las secuencias nucleotídicas de un promotor típico y de un terminador típico.

Como el DNA es bicatenario, un promotor podría, en principio, dirigir la síntesis de dos transcriptos de RNA diferentes, uno transcripto de izquierda a derecha y el otro, de derecha a izquierda. Sin embargo, el promotor es asimétrico y se une a la polimerasa en sólo una orientación; por lo tanto, una vez posicionada de manera adecuada sobre un promotor, la RNA polimerasa no tiene otra opción que la de transcribir la cadena de DNA apropiada, ya que la transcripción sólo puede progresar en la dirección 5´-3´. Globalmente, la dirección de transcripción con respecto al cromosoma como un todo varía de un gen a otro (Fig. 7-11). Como se requiere unión estrecha para que la RNA polimerasa comience la transcripción, sólo se transcribirá un segmento de DNA si éste es precedido de una secuencia promotora. Esto garantiza que sólo se transcribirán a RNA aquellas partes de la molécula del DNA que contienen un gen.

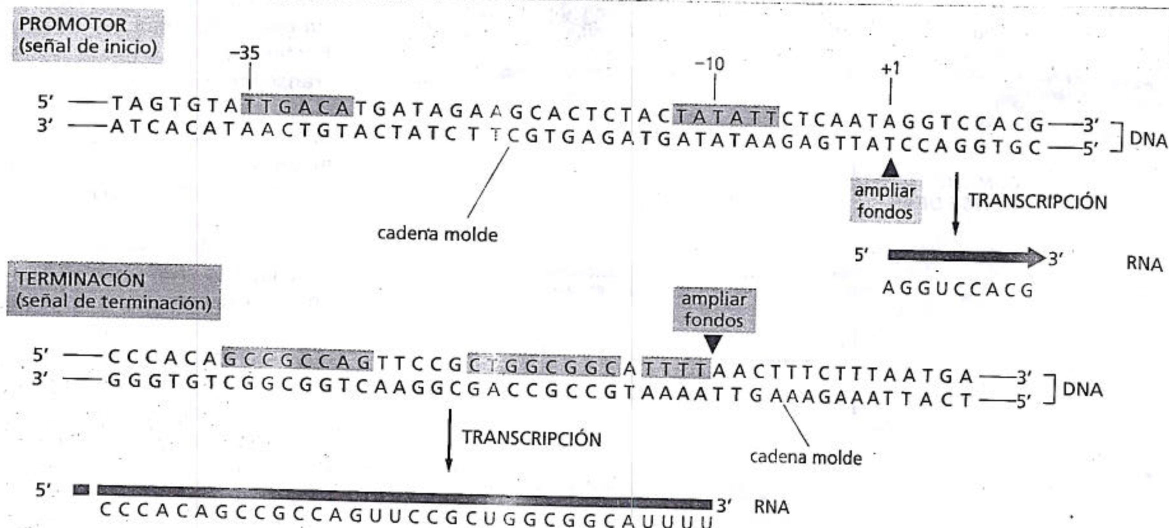


Figura 7-10. Los promotores y los terminadores bacterianos tienen secuencias nucleotídicas específicas que son reconocidas por la RNA polimerasa. Las regiones sombreadas en *verde* del diagrama superior representan las secuencias de DNA que especifican un promotor. Los números representan las posiciones de los nucleótidos que se cuentan a partir del primer nucleótido transcripto, que es designado +1. La asimetría del promotor –por ejemplo, el hecho de que la secuencia conservada en -35 esté corriente arriba de la secuencia -10– orienta a la polimerasa y determina la dirección de la transcripción. Todos los promotores bacterianos contienen secuencias de DNA en -10 y -35 que se asemejan mucho a las aquí mostradas. Las regiones sombreadas en *rojo* del diagrama inferior representan secuencias que envían señales a la RNA polimerasa para terminar la transcripción.

La iniciación de la transcripción de genes eucariontes es un proceso complejo

Muchos de los principios de la transcripción bacteriana reseñados antes también se aplican a los eucariontes. Sin embargo, hay varias diferencias importantes entre la iniciación de la transcripción en los eucariontes y en las bacterias:

- La primera diferencia reside en las propias RNA polimerasas. Mientras que las bacterias contienen un solo tipo de RNA polimerasa, los eucariontes tienen tres: *RNA polimerasa I*, *RNA polimerasa II* y *RNA polimerasa III*. Estas polimerasas son responsables de transcribir diferentes tipos de genes. Las RNA polimerasas I y III transcriben los genes que codifican RNA de transferencia, RNA ribosómico y RNA pequeños que cumplen funciones estructurales y catalíticas en la célula (cuadro 7-2). La RNA polimerasa II transcribe la vasta mayoría de los genes eucariontes, incluidos todos los que codifican proteínas (Película 7.3). Por lo tanto, la exposición ulterior se centrará en esta enzima.
- Una segunda diferencia es que, mientras que la RNA polimerasa bacteriana (junto con su unidad sigma) puede iniciar la transcripción por sí sola, las RNA polimerasas eucariontes requieren la ayuda de un gran grupo de proteínas accesorias. Las principales de éstas son los *factores de transcripción general*, que se deben ensamblar en cada promotor junto con la polimerasa antes de que ésta pueda comenzar la transcripción.
- Una tercera característica distintiva de la transcripción en eucariontes es que los mecanismos que controlan su iniciación son mucho más elaborados que los de los procariontes, un punto que se analiza en detalle en el capítulo 8. En las bacterias, los genes tienden a estar muy cerca unos de otros en el DNA, con sólo fragmentos muy cortos de DNA no transcripto entre ellos. Pero en las plantas y los animales, incluidos los seres humanos, cada gen está separado a lo largo del DNA, con extensiones de hasta 100.000 pares de nucleótidos entre un gen y el siguiente. Esta arquitectura permite que un solo gen sea controlado por una cantidad casi ilimitada de secuencias reguladoras dispersas a lo largo del DNA, y permite que los eucariontes presenten formas más complejas de regulación de la transcripción que las bacterias.
- Por último, pero no menos importante, la iniciación de la transcripción en eucariontes debe tener en cuenta el empaquetamiento del DNA en nucleosomas y formas más compactas de estructura de la cromatina, como se analiza en el capítulo 8.

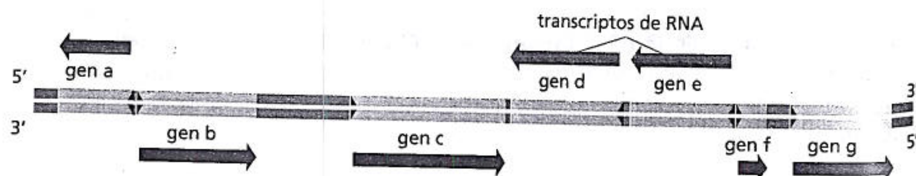


Figura 7-11. Algunos genes son transcriptos utilizando una de las cadenas de DNA como molde, mientras que otros son transcriptos utilizando la otra cadena. La dirección de la transcripción es determinada por la orientación del promotor al comienzo de cada gen (puntas de flecha *verdes*). Los genes transcriptos de izquierda a derecha utilizan la cadena de DNA inferior como molde; los transcriptos de derecha a izquierda utilizan a la cadena superior como molde (véase Fig. 7-10). Aquí se ha representado alrededor del 0,2% (10.000 pares de bases) del cromosoma de *E. coli*.

CUADRO 7-2 LAS TRES RNA POLIMERASAS DE LAS CÉLULAS EUCARIONTES

TIPO DE POLIMERASA	GENES TRANSCRIPTOS
RNA polimerasa I	La mayoría de los genes del rRNA
RNA polimerasa II	Genes codificadores de proteínas, genes del miRNA, más genes de algunos RNA pequeños (p. ej., los de los empalmosomas)
RNA polimerasa III	Genes del tRNA Gen del 5S rRNA Genes de muchos otros RNA pequeños

La RNA polimerasa eucarionte requiere factores de transcripción general

El hallazgo inicial de que, a diferencia de la RNA polimerasa bacteriana, la RNA polimerasa II eucarionte purificada no podía iniciar por sí misma la transcripción in vitro llevó a descubrir y purificar los **factores de transcripción general**. Estas proteínas accesorias se ensamblan sobre el promotor, donde posicionan a la RNA polimerasa, separan la doble hélice, exponen la cadena molde y lanzan a la RNA polimerasa a iniciar la transcripción.

La figura 7-12 muestra cómo se ensamblan los factores de transcripción general sobre un promotor usado por la RNA polimerasa II. Por lo general, el proceso de ensamblaje comienza con la unión del factor de transcripción general TFIID a una breve secuencia de DNA de doble hélice compuesta por nucleótidos T y A; dada su composición, se la conoce como *secuencia TATA*. Tras unirse al DNA, el TFIID causa una distorsión local sustancial del DNA (Fig. 7-13), que ayuda a servir de referencia para el ensamblaje ulterior de otras proteínas en el promotor. La secuencia TATA es un componente clave de muchos promotores usados por la RNA polimerasa II, y por lo general, se localiza 25 nucleótidos corriente arriba del sitio de inicio de la transcripción. Una vez que se ha unido el primer factor de transcripción general a este sitio del DNA, se ensamblan los otros factores, junto con la RNA polimerasa II, que forman un *complejo de iniciación de la transcripción* completo. Si bien la figura 7-12 muestra los factores de transcripción general apilados sobre el promotor en un determinado orden, es probable que, en la célula, el orden real de ensamblaje difiera de un promotor al siguiente.

Después de que la RNA polimerasa II se ha fijado al DNA promotor del complejo de iniciación de la transcripción, debe ser liberada del complejo de los factores de transcripción e inicia su tarea de sintetizar una molécula de RNA. Un paso clave de esta liberación es el agregado de grupos fosfato a la 'cola' de la RNA polimerasa, una acción realizada por el factor de transcripción general TFIIH, que contiene una enzima proteincinasa como una de sus subunidades (véase Fig. 7-12E). Se considera que esta fosforilación ayuda a que la polimerasa se desprenda del grupo de factores de transcripción, lo que permite el inicio de la transcripción. Una vez iniciada ésta, la mayoría de los factores de transcripción general son liberados

PREGUNTA 7-3

¿Se podría usar la RNA polimerasa utilizada para la transcripción como la polimerasa que produce el RNA cebador requerido para la replicación (véase Cap. 6)?

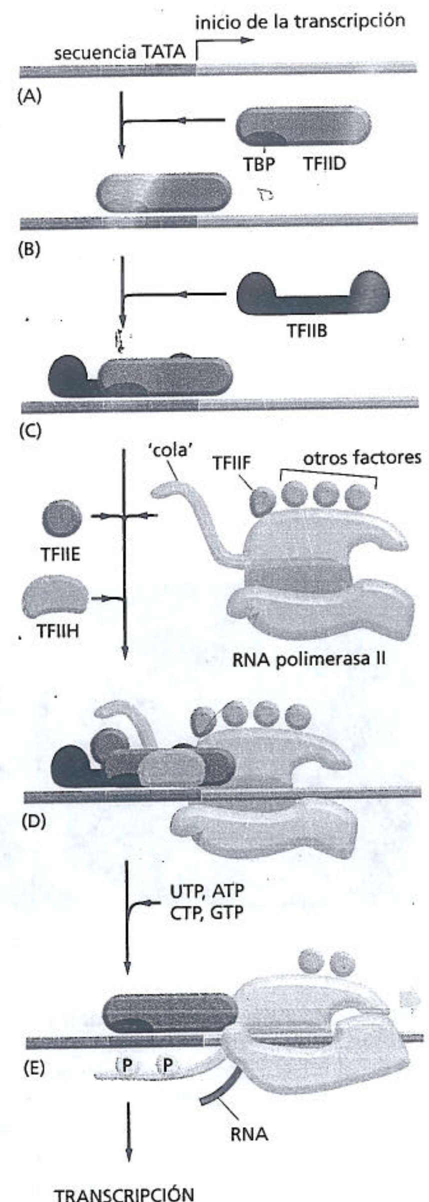


Figura 7-12. Para iniciar la transcripción, la RNA polimerasa II eucarionte requiere un conjunto de factores generales de transcripción. Estos factores de transcripción se denominan TFIIA, TFIIB, etcétera. (A) Muchos promotores contiene una secuencia de DNA denominada secuencia TATA. (B) El TFIID reconoce la secuencia TATA y se une a ella, lo que después permite la unión adyacente de TFIIB (C). Por razones de simplicidad, no se muestra la distorsión del DNA producida por la unión del TFIID (véase Fig. 7-13). (D) El resto de los factores generales de transcripción, así como la propia RNA polimerasa, se ensamblan en el promotor. (E) Después, el TFIIH separa la doble hélice en el punto de inicio de la transcripción utilizando la energía de la hidrólisis del ATP, lo que permite la exposición de la cadena molde. Asimismo, el TFIH también fosforila la RNA polimerasa II, lo que la libera de los factores generales, de manera que puede comenzar la fase de elongación de la transcripción. El sitio de fosforilación es una larga "cola" polipeptídica que se extiende de la molécula polimerasa.

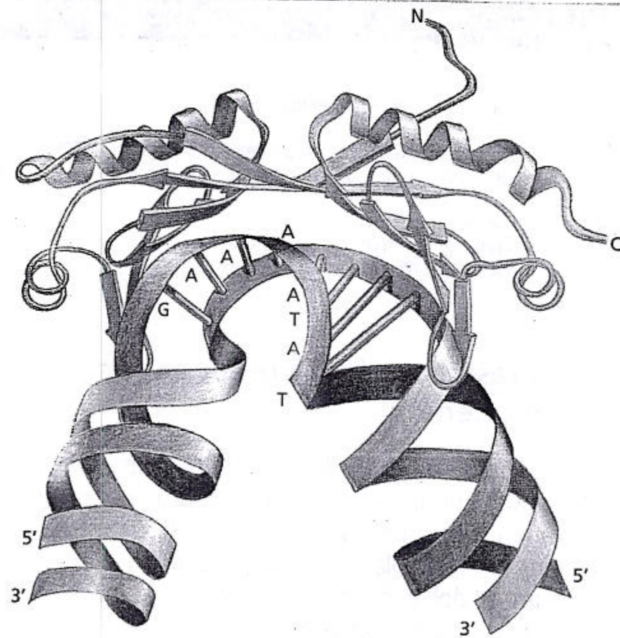


Figura 7.13. La proteína de unión a TATA (TBP) se une a secuencias TATA y distorsiona el DNA. La TBP es la subunidad del factor de transcripción general TFIID que es responsable de reconocer la secuencia TATA y unirse a ella (indicado por letras). La incurvación singular del DNA causada por la TBP –dos rulos de la doble hélice separados por DNA parcialmente desenrollado– puede ayudar a atraer los otros factores generales de transcripción. La TBP es una sola cadena polipeptídica plegada en dos dominios muy similares (*azul* y *verde*). Sus ocho hojas β se localizan por encima de la hélice de DNA como una silla de montar sobre un caballo (Película 7.4). (Adaptado de J. L. Kim et al., *Nature* 365:520-527, 1993. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

del DNA, de manera que quedan disponibles para iniciar otra ronda de transcripción con una nueva molécula de RNA polimerasa. Cuando la RNA polimerasa II termina de transcribir, es liberada del DNA, los fosfatos de la cola son eliminados por fosfatasas, y puede reiniciar la transcripción. Sólo la forma desfosforilada de la RNA polimerasa II puede iniciar la síntesis de RNA en un promotor.

Los RNA eucariontes son transcriptos y procesados simultáneamente en el núcleo

Aunque el principio de molde mediante el que se transcribe DNA a RNA es el mismo en todos los organismos, el modo en el que son manejados los transcriptos de RNA antes que las células puedan utilizarlos difiere mucho en bacterias y eucariontes. El DNA bacteriano se encuentra directamente expuesto al citoplasma, que contiene a los *ribosomas* en los que tiene lugar la síntesis de proteínas. A medida que se transcriben las moléculas de mRNA en las bacterias, los ribosomas se unen de inmediato al extremo 5′ libre del transcripto de RNA y comienza la síntesis proteica.

En cambio, en las células eucariontes, el DNA está dentro del *núcleo*. La transcripción se produce en el núcleo, pero la síntesis proteica tiene lugar en los ribosomas citoplasmáticos. Por lo tanto, antes de que un mRNA eucarionte pueda ser traducido, debe ser transportado fuera del núcleo a través de pequeños poros en la envoltura nuclear (Fig. 7-14). Pero antes de que el RNA eucarionte salga del núcleo, debe atravesar varios pasos diferentes de **procesamiento del RNA**. Estas reacciones se producen durante la transcripción del RNA. Las enzimas responsables del procesamiento del RNA en realidad cabalgan sobre la 'cola' de la RNA polimerasa eucarionte a medida que ésta transcribe un RNA y procesan el transcripto a medida que éste emerge de la RNA polimerasa (Fig. 7-15).

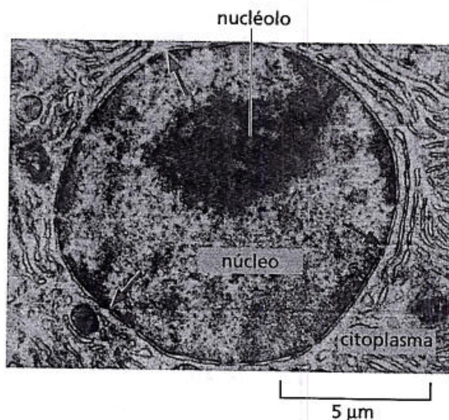


Figura 7-14. Antes de que puedan ser traducidas, las moléculas de mRNA generadas en el núcleo pasan al citoplasma a través de poros en la envoltura nuclear (*flechas*). Se muestra el corte del núcleo de una célula hepática. (De D.W. Fawcett, A *Textbook of Histology*, 11.ª ed. Philadelphia: Saunders, 1986. Con autorización de Elsevier).

De acuerdo con el tipo de RNA que se está produciendo –un mRNA o algún otro tipo– los transcriptos son procesados de varios modos antes de abandonar el núcleo. Dos pasos de procesamiento que se producen sólo en los transcriptos destinados a convertirse en moléculas de mRNA son el *encapuchamiento* y la *poliadenilación* (Fig. 7-16):

1. El encapuchamiento del RNA consiste en una modificación del extremo 5′ del transcripto de mRNA, el extremo que es sintetizado en primer lugar durante la transcripción. El RNA es encapuchado mediante el agregado de un nucleótido atípico: un nucleótido de guanina (G) con un grupo metilo

unido. El encapuchamiento se produce una vez que la RNA polimerasa ha producido alrededor de 25 nucleótidos de RNA, mucho antes de que haya completado la transcripción de todo el gen.

2. La poliadenilación les proporciona a la mayor parte de los mRNA recién transcriptos una estructura especial en su extremo 3´. A diferencia de las bacterias, donde el extremo 3´ de un mRNA es simplemente el final de la cadena sintetizada por la RNA polimerasa, los extremos 3´ de los RNA eucariontes son cortados primero por una enzima que fragmenta la cadena de RNA en una secuencia particular de nucleótidos y, después, son terminados por una segunda enzima que agrega una serie de nucleótidos de adenina repetidos (A) al extremo cortado. Por lo general, esta *cola de poli-A* tiene unos pocos cientos de nucleótidos de longitud.

Se considera que estas dos modificaciones encapuchamiento y poliadenilación– aumentan la estabilidad de la molécula de mRNA eucarionte, facilitan su exportación del núcleo al citoplasma, y en general identifican a la molécula de RNA como un mRNA. También son utilizadas por la maquinaria de síntesis proteica que corrobora que ambos extremos del mRNA están presentes y que, por lo tanto, el mensaje está completo antes de que se inicie la síntesis proteica.

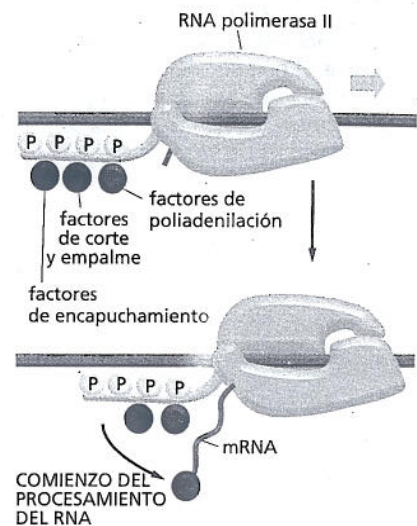
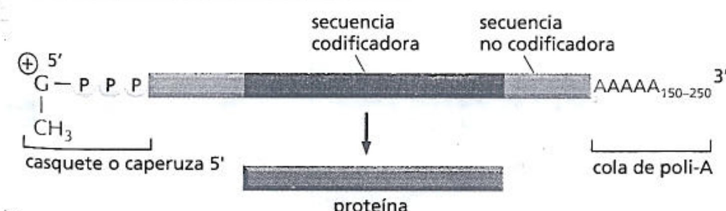


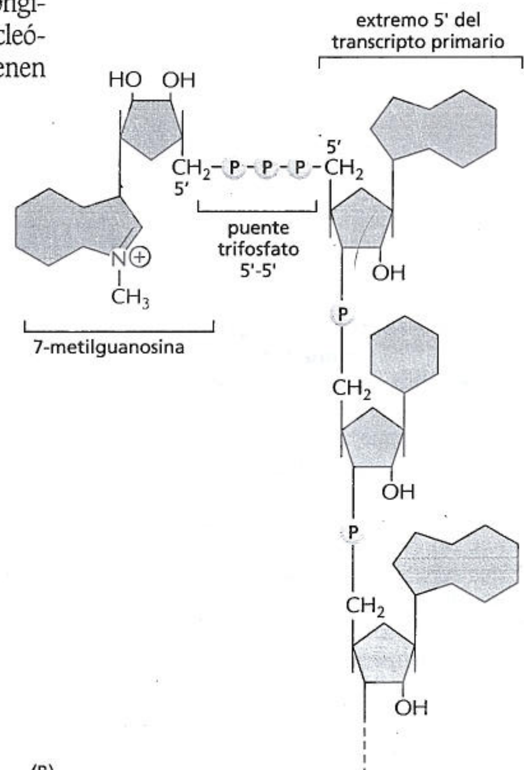
Figura 7-15. La fosforilación de la RNA polimerasa II permite que las proteínas que procesan el RNA se ensamblen en su cola. La polimerasa no sólo transcribe el DNA a RNA, sino que también transporta las proteínas de procesamiento del RNA que actúan sobre el RNA recién fabricado. Algunas proteínas de procesamiento del RNA se unen a la cola de RNA polimerasa cuando es fosforilada en etapas tardías del proceso de iniciación de la transcripción (véase Fig. 7-12). El encapuchamiento, la poliadenilación y el corte y empalme (analizados más adelante en este capítulo) son modificaciones realizadas al RNA durante el procesamiento.

Los genes eucariontes están interrumpidos por secuencias no codificadoras

La mayor parte de los RNA eucariontes experimentan una etapa de procesamiento adicional antes de ser funcionales. Este paso implica una modificación más radical del transcripto primario de RNA que el encapuchamiento o la poliadenilación, y es la consecuencia de una característica sorprendente de la disposición del gen eucarionte. En las bacterias, la mayoría de las proteínas son codificadas por un tramo ininterrumpido de secuencia de DNA que es transcripta en un RNA que, sin ningún procesamiento adicional, puede servir como mRNA. En cambio, en la mayoría de los genes eucariontes, las secuencias de codificación están interrumpidas por largas *secuencias interpuestas* no codificadoras, denominadas **intrones** (Fig. 7-17). Los fragmentos dispersos de secuencias codificadoras, o *secuencias expresadas*, denominadas **exones**, suelen ser más cortos que los intrones, y la porción codificadora de un gen eucarionte a menudo sólo representa una pequeña fracción de la longitud total del gen. Los intrones varían de un solo nucleótido a más de 10.000 nucleótidos de longitud; algunos genes eucariontes carecen de intrones, algunos tienen sólo unos pocos, pero la mayoría contiene muchos (Fig. 7-18).

Figura 7-16. Las moléculas de mRNA eucarionte son modificadas mediante encapuchamiento y poliadenilación. (A) Los extremos de un mRNA eucarionte son modificados por el agregado de un casquete en el extremo 5´ y por fragmentación del transcripto primario y el agregado de una cola de poli-A en el extremo 3´. (B) Estructura del casquete en el extremo 5´ de las moléculas de mRNA eucarionte. Obsérvese la unión infrecuente 5´ - 5´ de la 7-metil G al resto del RNA. Muchos casquetes de mRNA eucarionte llevan una modificación adicional: el grupo hidroxilo 2´ del segundo azúcar de ribosa del mRNA está metilado (no se muestra).





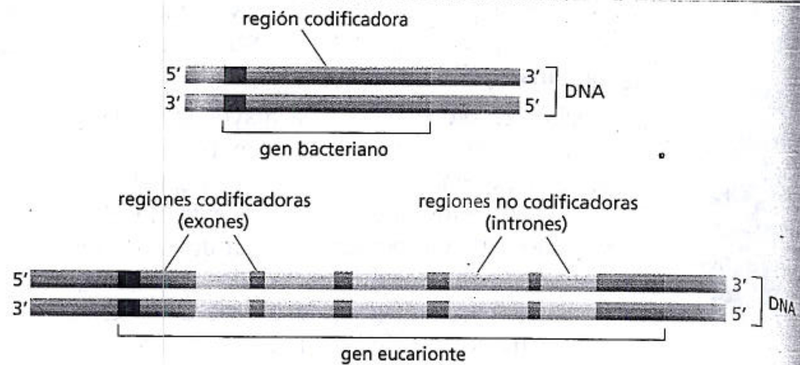


Figura 7-17. Los genes eucariontes y bacterianos están organizados de modo diferente. El gen de una bacteria consta de un solo tramo de una secuencia de nucleótidos ininterrumpida que codifica la secuencia de aminoácidos de una proteína. En contraste, las secuencias codificantes de la mayor parte de los genes eucariontes (exones) están interrumpidas por secuencias no codificadoras (intrones). Los promotores para la transcripción se indican en *verde*.

Los intrones son eliminados por el corte y empalme del RNA

Para producir un mRNA en una célula eucarionte, la longitud total del gen, tanto los intrones como los exones, es transcripta a RNA. Después del encapuchamiento, a medida que la RNA polimerasa continúa transcribiendo el gen, comienza el proceso de **corte y empalme del RNA**, en el que se eliminan del RNA recién sintetizado las secuencias de intrones y se unen entre sí los exones. Por último, cada transcripto recibe una cola de poli-A; en algunos casos, esto sucede después del corte y empalme, y en otros, se produce antes que se hayan completado las reacciones finales de corte y empalme. Una vez que el transcripto ha sido cortado y empalmado y sus extremos 5´ y 3´ han sido modificados, el RNA es una molécula funcional que puede abandonar el núcleo y ser traducida a proteína.

¿Cómo hace la célula para determinar qué partes del transcripto de RNA debe eliminar durante el corte y empalme? A diferencia de la secuencia codificadora de un exón, la mayor parte de la secuencia nucleotídica de un intrón no es importante. Aunque hay poca semejanza global entre las secuencias nucleotídicas de diferentes intrones, cada intrón contiene unas pocas secuencias nucleotídicas cortas que actúan como señales para su eliminación. Estas secuencias se encuentran en cada extremo del intrón o cerca de éste y son las mismas o muy similares en todos los intrones (Fig. 7-19). Guiada por estas secuencias, una elaborada maquinaria de corte y empalme suprime la secuncia del intrón en forma de la estructura de 'lazo' (Fig. 7-20), formada por la reacción de 'A' resaltada en rojo en las figuras 7-19 y 7-20.

Si bien no se describirá en detalle la maquinaria de corte y empalme, se observa que, a diferencia de los otros pasos de la producción de mRNA, el corte y empalme del RNA es llevado a cabo en gran medida por moléculas de RNA en lugar de proteínas. Las moléculas de RNA reconocen los límites intrón-exón (a través del apareamiento de bases complementarias) y participan íntimamente en los procesos químicos del corte y empalme. Estas moléculas de RNA, denominadas **RNA nucleares pequeños (snRNA)**, están empaquetados con otras proteínas formando *partículas ribonucleoproteicas nucleares pequeñas* (*snRNP*, que en inglés se pronuncian "snurp"). Estas snRNP forman el centro del **empalmosoma (ayustosoma)**, el gran ensamblaje de moléculas de RNA y proteínas que llevan a cabo el corte y empalme en la célula. Véase la acción del empalmosoma en la Película 7.5.

El tipo de disposición intrón-exón del gen eucarionte parece, al principio, un

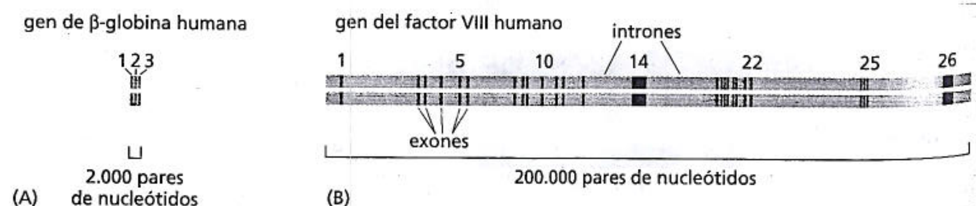


Figura 7-18. La mayor parte de los genes humanos están formados por exones e intrones. (A) El gen de la β-globina, que codifica una de las subunidades de la proteína transportadora de oxígeno, hemoglobina, contiene 3 exones. (B). El gen del factor VIII, que codifica una proteína (factor VIII) que actúa en la cascada de coagulación de la sangre, contiene 26 exones. Las mutaciones de este gen grande son responsables de la forma más prevalente de hemofilia.

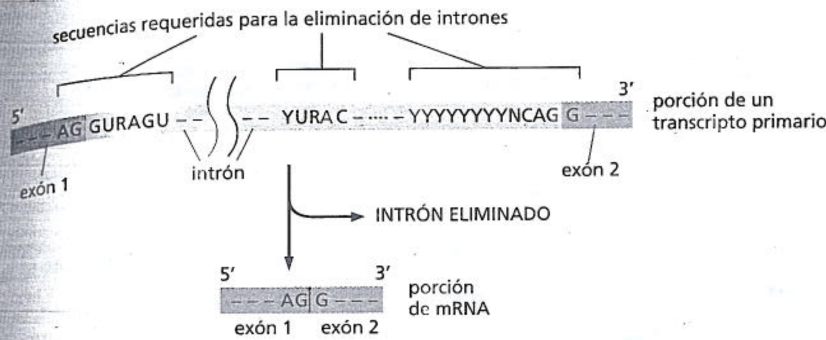


Figura 7-19. Secuencias especiales de nucleótidos indican el comienzo y el final de un intrón. Sólo se requieren las secuencias de nucleótidos mostradas para eliminar a un intrón. Las otras posiciones de un intrón pueden ser ocupadas por cualquier nucleótido. Las secuencias especiales son reconocidas por ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNP), que cortan el RNA en los límites intrón-exón y unen covalentemente la secuencia de exones. Aquí, R representa a C o U; N, a cualquier nucleótido. La A destacada en *rojo* forma el punto de ramificación del lazo producido en la reacción de corte y empalme (véase Fig. 7-20). Las distancias a lo largo del RNA entre las tres secuencias de corte y empalme son muy variables; sin embargo, la distancia entre el punto de ramificación y la unión 5′ de corte y empalme es típicamente mucho más larga que la observada entre la unión 3′ de corte y empalme y el punto de ramificación. Las secuencias de corte y empalme aquí mostradas son de seres humanos; secuencias similares dirigen el corte y empalme en otros organismos eucariontes.

derroche, pero tiene, de hecho, consecuencias positivas. Primero, los transcriptos de muchos genes eucariontes se pueden cortar y empalmar de diferentes maneras, cada una de las cuales puede producir una proteína distinta. Por lo tanto, este **corte y empalme alternativo** permite producir muchas proteínas diferentes a partir del mismo gen (Fig. 7-21). Se estima que el 60% de los genes humanos probablemente sean sometidos a corte y empalme alternativo. Así, el corte y empalme permite que los eucariontes aumenten el ya enorme potencial de codificación de sus genomas.

Asimismo, el corte y empalme confiere otra ventaja a los eucariontes, una que probablemente haya sido de gran importancia al comienzo de la historia evolutiva de los genes. Como se analiza en detalle en el capítulo 9, se considera que la estructura exón-intrón de los genes aceleró la aparición de proteínas nuevas y útiles. La inclusión de largos intrones torna mucho más probable la recombinación entre exones de diferentes genes. Esto significa que los genes para las nuevas proteínas podrían haber evolucionado con bastante rapidez por la combinación de partes de genes preexistentes, un mecanismo que se asemeja al ensamblaje de un nuevo tipo de máquina a partir de un conjunto de componentes funcionales preexistentes. De hecho, muchas proteínas de las células actuales se asemejan a mosaicos compuestos a partir de un grupo común de fragmentos de proteínas, denominados *dominios* proteicos (véase Fig. 4-16).

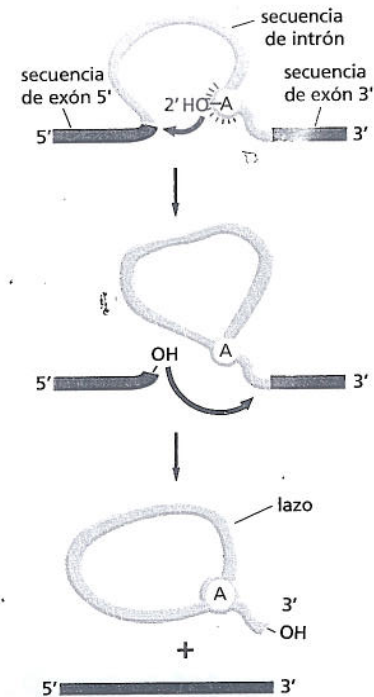


Figura 7-20. Un intrón forma una estructura ramificada durante el corte y empalme. En el primer paso, el punto de ramificación adenina (A *rojo*) de la secuencia del intrón ataca al sitio 5′ de corte y empalme y corta el esqueleto azúcar-fosfato del RNA en este punto (esta adenina es la misma que la destacada en rojo, en la Fig. 7-19). El extremo 5′ cortado del intrón se une en forma covalente al grupo 2′–OH de la ribosa de la A y forma una estructura ramificada. El extremo 3′–OH libre de la secuencia del exón reacciona después con el comienzo de la siguiente secuencia de exón, lo que une a los dos exones en una secuencia codificadora continua y libera el intrón en la forma de un lazo, que finalmente es degradado.

Los mRNA eucariontes maduros son exportados selectivamente del núcleo

Se ha explicado cómo tiene lugar la síntesis y procesamiento del mRNA eucarionte en una forma ordenada dentro del núcleo celular. Sin embargo, estos fenómenos crean un problema especial para las células eucariontes: del mRNA total sintetizado, solo una pequeña fracción el mRNA maduro– es útil para la célula. Los fragmentos de RNA restantes intrones eliminados, RNA rotos y transcriptos cortados y empalmados de manera aberrante– no sólo son inútiles, sino que podrían ser peligrosos para la célula si no se los destruye. ¿Cómo hace la célula entonces para distinguir entre las moléculas de mRNA maduras relativamente raras que necesita conservar y la abrumadora cantidad de residuos generados por el procesamiento del RNA?

La respuesta es que el transporte de mRNA desde el núcleo hacia el citoplasma, donde se traduce en proteína, es muy selectivo: sólo se permite el paso de los RNA correctamente procesados. Esta dependencia del procesamiento correcto para el transporte del RNA es mediada por el *complejo del poro nuclear*, que reconoce y exporta sólo mRNA que han sido terminados. Estos poros acuosos conectan el nucleoplasma con el citosol, y como se comenta en el capítulo 15, actúan como compuertas que controlan qué macromoléculas pueden ingresar en el núcleo o abandonarlo. Para estar 'lista para exportación', una molécula de mRNA debe estar unida a un grupo apropiado de proteínas, cada una de las cuales indica que el mRNA fue procesado correctamente. Esas proteínas son las proteínas de unión a poli-A, un complejo de unión a la caperuza (casquete) y las proteínas que mar-

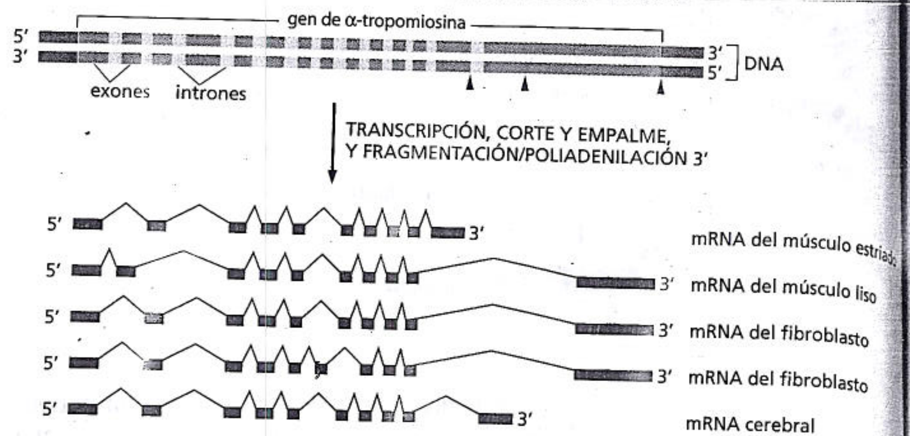


Figura 7-21. El gen de α-tropomiosina puede ser cortado y empalmado de diferentes modos. La α-tropomiosina es una proteína dispuesta en espiral (véase Fig. 4-13) que regula la contracción en las células musculares. El transcripto primario puede ser cortado y empalmado de diferentes modos, como se indica en la figura, y produce distintos mRNA que luego dan origen a variaciones de proteínas. Algunos de los patrones de corte y empalme son específicos de ciertos tipos de células. Por ejemplo, la α-tropomiosina producida en el músculo estriado es diferente de la producida en el músculo liso, aunque ambas provienen del mismo gen. Las puntas de flecha en la parte superior de la figura representan los sitios donde puede ocurrir un agregado de poli-A.

can que los cortes y empalmes del RNA fueron completados (**Fig. 7-22**). Se presume que todo el grupo de proteínas unidas, y no una única proteína, es el que determina, finalmente, si una molécula de RNA dejará el núcleo. Los 'RNA de desecho' que permanecen en el núcleo son degradados, y sus componentes se reutilizan para la transcripción.

Las moléculas de mRNA finalmente son degradadas por la célula

Como una sola molécula de mRNA puede se traducida muchas veces (véase Fig. 7-2), el tiempo durante el que una molécula de mRNA madura persiste en la célula incide en la cantidad de proteína producida. Cada molécula de mRNA finalmente es degradada a nucleótidos por las RNAsas celulares, pero el tiempo de vida de las moléculas de mRNA difiere de manera considerable según la secuencia de nucleótidos del mRNA y el tipo de célula en la que es producido. La mayor parte de los mRNA producidos en las bacterias son degradados con rapidez, y su semivida típica es de alrededor de 3 minutos. Por lo general, los mRNA de las células eucariontes persisten más. Algunos transcriptos, como los que codifican la β-globina, tienen una semivida de más de 10 horas, mientras que otros mRNA de eucariontes tienen semividas de menos de 30 minutos.

Estas diferencias son controladas, en parte, por las secuencias de nucleótidos presentes en el propio mRNA, la mayoría de las veces en la porción del RNA denominada región 3´ no traducida, que se localiza entre el extremo 3´ de la secuencia

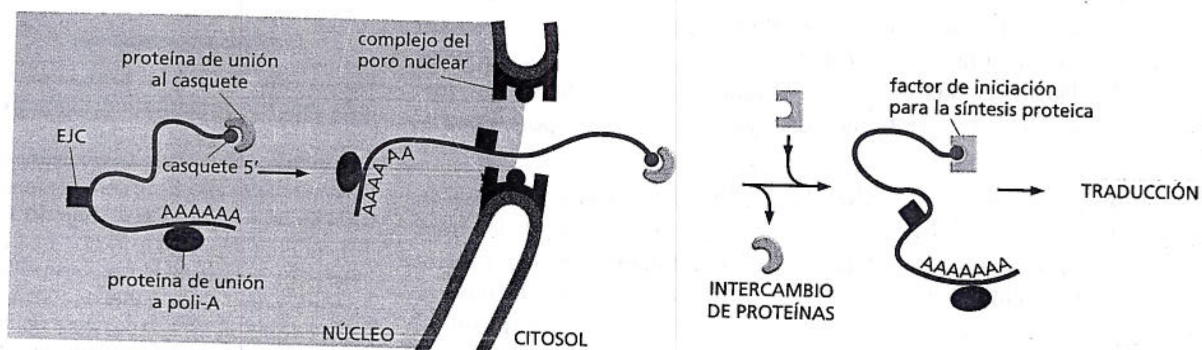


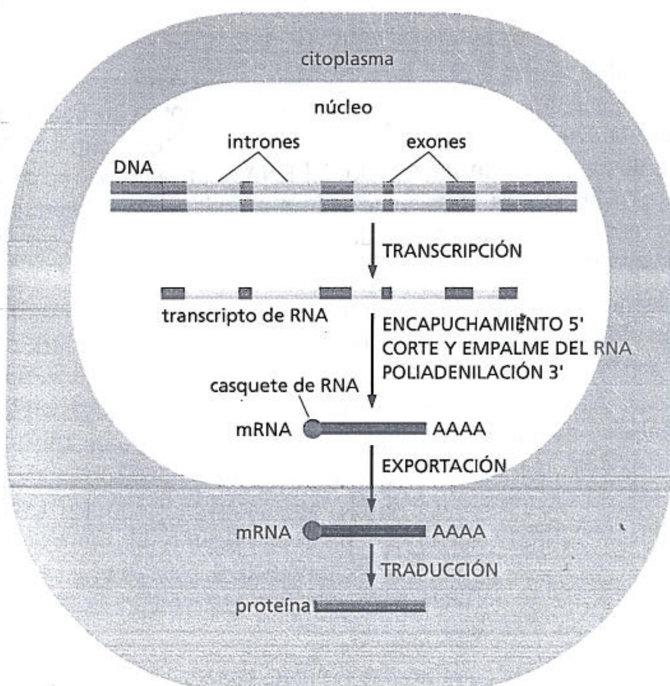
Figura 7-22. Un grupo especializado de proteínas de unión al RNA señala que un mRNA maduro está preparado para ser exportado al citoplasma. Como se indica a la izquierda, el casquete y la cola de poli-A de una molécula de RNA maduro son 'marcadas' por proteínas que reconoce estas modificaciones. Además, un grupo de proteínas denominadas *complejo de unión del exón* (EJC) se deposita sobre el mRNA después del corte y empalme exitoso. Una vez que se considera que el mRNA está 'listo para la exportación', un receptor de transporte nuclear (analizado en el Cap. 15) se asocia con éste y lo guía a través del poro nuclear. Una vez que se encuentra en el citosol, el mRNA puede desprender proteínas unidas previamente y adquirir otras nuevas.

codificadora y la cola de poli-A. Las diferentes semividas del mRNA ayudan a la célula a especificar la cantidad de cada proteína que sintetiza. En general, las proteínas producidas en altos niveles, como la β-globina, son traducidas a partir de mRNA con una semivida prolongada, mientras que aquellas proteínas presentes en concentraciones bajas o cuyos niveles deben cambiar rápidamente en respuesta a señales, suelen ser sintetizadas a partir de mRNA de semivida corta. Estos distintos períodos de vida son el resultado de la puesta a punto evolutiva en la que la estabilidad de cada mRNA está vinculada con las necesidades de la célula.

Las primeras células pueden haber tenido intrones en sus genes

El proceso de transcripción es universal: todas las células utilizan RNA polimerasa acoplada con el apareamiento de bases complementarias, para sintetizar RNA a partir de DNA. De hecho, las RNA polimerasas bacterias y eucariontes son casi idénticas en su estructura global, y es evidente que han evolucionado a partir de una polimerasa ancestral compartida. Por lo tanto, puede parecer desconcertante que el transcripto resultante sea manejado de modo muy diferente en eucariontes y procariontes (Fig. 7-23). En particular, el corte y empalme del RNA parece marcar una diferencia fundamental entre esos dos tipos de células. Pero, ¿cómo se originó esta diferencia sustancial?

Como se ha visto, el corte y empalme del RNA les confiere a los eucariontes la capacidad de producir diversas proteínas a partir de un solo gen, y cierto grado de flexibilidad evolutiva. Sin embargo, estas ventajas tiene un costo: la célula está obligada a mantener un genoma más grande y a desechar una gran fracción del RNA que sintetiza. De acuerdo con una escuela de pensamiento, las células iniciales el antepasado común de procariontes y eucariontes– contenían intrones que se perdieron en los procariontes durante la evolución ulterior. Al deshacerse de sus intrones y adoptar un genoma más pequeño y más estandarizado, los procariontes habrían sido capaces de reproducirse con mayor rapidez y eficiencia. Los eucariontes simples que se reproducen con rapidez (p. ej., algunas levaduras) tienen relativamente pocos intrones, y por lo general, estos intrones son mucho más cor-



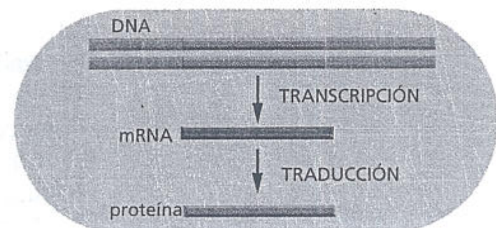


Figura 7-23. Los procariontes y los eucariontes manejan sus transcriptos de RNA de modo diferente. (A) En las células eucariontes, la molécula de RNA inicial producida por la transcripción contiene las secuencias del intrón y del exón. Sus dos extremos son modificados y los intrones se eliminan por una reacción de corte y empalme del RNA catalizada enzimáticamente. Después, el mRNA resultante es transportado del núcleo al citoplasma, donde es traducido a proteína. Aunque estos pasos se describen como sucesivos, en realidad son simultáneos. Por ejemplo, el agregado del casquete de RNA y el corte y empalme suelen comenzar antes de que el transcripto se haya completado. Debido a este acoplamiento, en general, no hay transcriptos de todo el gen (incluidos todos los intrones y exones) en la célula. (B) En los procariontes, la producción de moléculas de mRNA es más simple. El extremo 5´ de una molécula de mRNA se forma por el inicio de la transcripción por una RNA polimerasa, y el extremo 3´ se produce por finalización de la transcripción. Como las células procariontes carecen de núcleo, la transcripción y la traducción tienen lugar en un compartimiento común. Por lo tanto, la traducción de un mRNA bacteriano puede comenzar antes de que se haya completado su síntesis. La cantidad de proteína de una célula depende de la eficiencia de cada una de estos pasos y de las velocidades de degradación de las moléculas de RNA y proteína.

tos que los hallados en los eucariontes superiores, lo que es compatible con esta idea.

Por el contrario, algunos autores argumentan que los intrones eran originalmente elementos genéticos móviles parasitarios (véase Cap. 6) que invadieron a un ancestro eucarionte inicial y colonizaron su genoma. Sin darse cuenta, estas células hospedadoras replicaron, después, los fragmentos nucleotídicos junto con su propio DNA, y los eucariontes modernos nunca se molestaron en barrer el desorden genético dejado por esa antigua infección. Sin embargo, la cuestión está lejos de ser resuelta; si los intrones evolucionaron tempranamente –y se perdieron en los procariontes– o evolucionaron más adelante en los eucariontes todavía es un tema de debate científico, que se volverá a tratar en el capítulo 9.

DEL RNA A LA PROTEÍNA

A fines de la década de 1950, los biólogos habían demostrado que la información codificada en el DNA es copiada primero en RNA y luego en proteínas. Después, el debate se centró en el problema de la codificación: ¿cómo se traduce la información de una secuencia lineal de nucleótidos en el RNA a la secuencia lineal de un grupo de subunidades químicamente diferentes: los aminoácidos de las proteínas? Este interrogante fascinante generó un gran entusiasmo entre los científicos de la época. Había un criptograma preparado por la naturaleza que, después de más de 3.000 millones de años de evolución, podía finalmente ser resuelto por uno de los productos de la evolución, el ser humano. Por cierto, los científicos no sólo han descifrado el código, sino que revelaron, en detalle atómico, el funcionamiento preciso de la maquinaria mediante la cual éste es leído por las células.

Una secuencia de mRNA es decodificada en grupos de tres nucleótidos

La transcripción como un medio de transferencia de información es simple de comprender, dado que el DNA y el RNA son química y estructuralmente similares, y el DNA puede actuar como un molde directo para la síntesis de RNA mediante el apareamiento de bases complementarias. Como expresa el término transcripción, es como si un mensaje manuscrito fuera convertido, por ejemplo, en un texto escrito a máquina. El lenguaje mismo y la forma del mensaje no cambian, y los símbolos utilizados están estrechamente relacionados.

Por el contrario, la conversión de la información del RNA a proteína representa una **traducción** de la información a otro lenguaje que utiliza símbolos bastante diferentes. Como hay sólo 4 nucleótidos distintos en el mRNA pero 20 tipos diferentes de aminoácidos en una proteína, esta traducción no se puede explicar por una correspondencia directa entre un nucleótido del RNA y un aminoácido de la proteína. Las reglas por las cuales la secuencia de nucleótidos de un gen, por medio del mRNA, es traducida a la secuencia de aminoácidos de una proteína se conocen como el **código genético**.

La secuencia de nucleótidos de la molécula de mRNA se lee consecutivamente en grupos de tres. Como el RNA es un polímero lineal formado por cuatro nucleótidos diferentes, hay por lo tanto $4 \times 4 \times 4 = 64$ combinaciones posibles de tres nucleótidos: AAA, AUA, AUG, y así sucesivamente. Sin embargo, sólo se suelen encontrar 20 aminoácidos distintos en las proteínas. O bien algunos tripletes nunca se utilizan, o el código es redundante y algunos aminoácidos son especificados por más de un triplete. De hecho, la segunda posibilidad es la correcta, como revela el código genético completamente descifrado de la figura 7-21. Cada grupo de tres nucleótidos consecutivos del RNA se denomina **codón**, y cada uno especifica un aminoácido. La estrategia aplicada para descifrar este código se describe en Biología experimental, pp. 248-249.

Casi todos los organismos actuales utilizan este código genético ilustrado en la figura 7-24. Aunque se descubrieron algunas diferencias menores del código, que

GCA GCC GCG GCU	AGA AGG CGA CGC CGG CGU	GAC GAU	AAC AAU	UGC UGU	GAA GAG	CAA CAG	GGA GGC GGG GGU	CAC CAU	AUA AUC AUU	UUA UUG CUA CUC CUG CUU	AAA AAG	AUG	UUC UUU	CCA CCC CCG CCU	AGC AGU UCA UCC UCG UCU	ACA ACC ACG ACU	UGG	UAC UAU	GUA GUC GUG GUU	UAA UAG UGA
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

Figura 7-24. La secuencia de nucleótidos de un mRNA es traducida a la secuencia de aminoácidos de una proteína por medio del código genético. Todos los codones de tres nucleótidos que especifican un determinado aminoácido se indican por encima de éste, en la forma abreviada de tres letras y de una letra (véanse el nombre completo y la estructura de cada aminoácido en la lámina 2-5). Por convención, los codones se escriben siempre con el nucleótido 5´-terminal a la izquierda. Obsérvese que la mayor parte de los aminoácidos están representados por más de un codón, y que hay algunas regularidades en el grupo de codones que especifican cada aminoácido. Los codones para el mismo aminoácido tienden a contener los mismos nucleótidos en la primera y segunda posición, pero varían en la tercera. Hay tres codones que no especifican ningún aminoácido, sino que funcionan como sitios de terminación (codones de terminación), que señalan el fin de la secuencia codificadora de una proteína. Un codón –AUG– actúa a la vez como codón de iniciación, que indica el inicio de un mensaje que codifica una proteína, y como el codón que especifica metionina.

corresponden principalmente al DNA de las mitocondrias. Estos orgánulos tienen su propia maquinaria de transcripción y de síntesis proteica que opera con bastante independencia de la del resto de la célula (véase Cap. 14) y fueron capaces de albergar cambios menores respecto del código por lo demás universal. Aun en hongos y protozoos, las similitudes del código superan por lejos las diferencias.

En principio, una secuencia de RNA se puede traducir en cualquiera de tres **marcos de lectura** diferentes no superpuestos, lo que depende de dónde comienza el proceso de decodificación (Fig. 7-25). Sin embargo, sólo uno de los tres marcos de lectura posibles de una molécula de mRNA especifica la proteína correcta. Se verá en una sección posterior cómo una señal de puntuación especial al comienzo del mensaje del RNA establece el marco de lectura correcto.

Las moléculas de tRNA acoplan aminoácidos con los codones del mRNA

Los codones de una molécula de mRNA no reconocen directamente los aminoácidos que especifican: p. ej., el grupo de tres aminoácidos no se une de manera directa a un aminoácido. Más bien, la traducción del mRNA a proteína depende de moléculas adaptadoras que pueden reconocer y unirse al codón, en un sitio de su superficie, y a un aminoácido, en otro sitio. Estos adaptadores consisten en un grupo de moléculas de RNA pequeñas conocidas como **RNA de transferencia (tRNA)**, cada uno de alrededor de 80 nucleótidos de longitud.

Se mencionó antes que una molécula de RNA se suele plegar en una estructura tridimensional formando pares de bases entre diferentes regiones de la molécula. Si las regiones de bases apareadas son lo bastante extensas, formarán una estructura de doble hélice, como la del DNA bicatenario. La molécula de tRNA representa un sorprendente ejemplo de esto. Cuatro segmentos cortos del tRNA plegado son hélices dobles, lo que da origen a una molécula que se asemeja a una hoja de trébol cuando es dibujada esquemáticamente (Fig. 7- 28A). Por ejemplo, la secuencia 5´-GCUC-3´ de una parte de una cadena polinucleotídica puede formar una asociación relativamente fuerte con una secuencia 5´-GAGC-3´ de otra región de la misma molécula. La hoja de trébol se pliega aun más y forma una estructura compacta en forma de L que es mantenida por otros enlaces de hidrógeno entre diferentes regiones de la molécula (véase Fig. 7-28B y C).

Dos regiones de nucleótidos no apareados en cada extremo de la molécula en forma de L son cruciales para la función del tRNA en la síntesis proteica. Una de estas regiones forma el **anticodón**, un grupo de tres nucleótidos consecutivos que, por apareamiento de bases, se une al codón complementario de una molécula de mRNA. La otra es una región monocatenaria corta en el extremo 3´ de la molécu-

5′ 3′
1 CUC AGC GUU ACC AU
—Leu—Ser—Val—Thr—

2 C UCA GCG UUA CCA U
—Ser—Ala—Leu—Pro—

3 CU CAG CGU UAC CAU
—Gln—Arg—Tyr—His—

Figura 7-25. Una molécula de RNA puede ser traducida en tres marcos de lectura posibles. En el proceso de traducción de una secuencia de nucleótidos (*azul*) a una secuencia de aminoácidos (*rojo*), la secuencia de nucleótidos de una molécula de mRNA es leída de 5´ a 3´ en grupos secuenciales de tres nucleótidos. Por lo tanto, en principio, la misma secuencia de RNA puede especificar tres secuencias de aminoácidos completamente diferentes, según el marco de lectura. Pero en realidad, sólo uno de estos marcos de lectura codifica el mensaje real.

DESCIFRANDO EL CÓDIGO GENÉTICO

A comienzos de la década de 1960, el *dogma central* se había aceptado como la vía por la que fluye la información del gen a la proteína. Era evidente que los genes codifican proteínas, que están formados por DNA, y que el mRNA actúa como un intermediario que transporta la información desde el núcleo donde está almacenado el DNA hacia el citoplasma, donde tiene lugar la traducción a proteínas.

Incluso se había resuelto el formato general del código genético: cada uno de los 20 aminoácidos encontrados en las proteínas está representado por un codón (triplete de nucleótidos) de una molécula de mRNA. Pero persistía un problema aun mayor: biólogos, químicos e incluso físicos fijaron sus miras en descifrar el código genético intentando resolver qué aminoácidos designa cada uno de los 64 tripletes de nucleótidos posibles. El camino más sencillo para la solución podría haber sido comparar la secuencia de un segmento de DNA o mRNA con su producto polipeptídico correspondiente. Sin embargo, las técnicas para la secuenciación de ácidos nucleicos no se desarrollaron hasta fines de la década de los sesenta.

Por lo tanto, los investigadores decidieron que para descifrar el código genético deberían sintetizar sus propios mensajes simples. Si podían incorporar estas moléculas a los ribosomas –las maquinarias que fabrican proteínas– y analizar después el producto polipeptídico resultante, estarían encaminados para descifrar qué tripletes codifican qué aminoácidos.

Perdiendo las células

Antes de que los investigadores comenzaran a preparar sus mRNA sintéticos, querían perfeccionar un sistema acelular para la síntesis de proteínas. Esto les permitiría traducir sus mensajes a polipéptidos en un tubo de ensayo (en términos generales, cuando se está trabajando en un laboratorio, cuanto más simple es el sistema, más fácil es interpretar los resultados). Para aislar la maquinaria molecular que necesitaban para un sistema de traducción acelular, los investigadores abrieron células de *E. coli* y colocaron su contenido en una centrifugadora. La centrifugación de estas muestras a alta velocidad determinó que las membranas y otros grandes fragmentos de desechos celulares fueran arrastrados al fondo del tubo; los componentes más livianos requeridos para la síntesis proteica, como el mRNA, los tRNA adaptadores, los ribosomas, las enzimas y otras moléculas pequeñas, quedaron flotando en el sobrenadante. Los investigadores hallaron que el simple agregado de aminoácidos radiactivos a esta "sopa" celular desencadenaba la producción de proteínas marcadas radiactivamente. Al centrifugar de nuevo el sobrenadante a una velocidad algo más elevada, los ribosomas y cualquier péptido recién sintetizado se depositaban en el fondo del tubo; después, se podían detectar los polipéptidos marcados midiendo la radiactividad en el sedimento restante luego de desechada la capa superior.

El problema de este sistema particular fue que producía proteínas codificadas por mRNA celulares ya presentes en el extracto.

Pero los investigadores querían utilizar sus propios mensajes sintéticos para dirigir la síntesis de proteínas. El problema fue resuelto cuando Marshall Nirenberg descubrió que podía destruir el mRNA celular del extracto al añadir a la mezcla una pequeña cantidad de ribonucleasa, una enzima que degrada RNA. Ahora, todo lo que necesitaba era preparar grandes cantidades de su propio mensaje, colocar este mRNA sintético en el sistema acelular y ver qué péptidos aparecían.

Falsificando el mensaje

Producir un polinucleótido sintético con una secuencia definida no era tan simple como parecía. También en este caso, transcurrieron años antes de que los químicos desarrollaran técnicas para sintetizar cualquier cadena dada de ácidos nucleicos. Nirenberg decidió usar la polinucleótido fosforilasa, una enzima que unía ribonucleótidos en ausencia de un molde. La secuencia de RNA resultante dependería por entero de qué nucleótidos fueran presentados a la enzima. Una mezcla de nucleótidos se combinaría en una secuencia aleatoria; pero un solo tipo de nucleótido produciría un polímero homogéneo que contendría sólo ese nucleótido. Así, trabajando con su colaborador Heinrich Matthaei, Nirenberg produjo primero un mRNA compuesto completamente por uracilo: poli U.

Estos investigadores colocaron el poli U en su sistema de traducción acelular. Después, agregaron a la mezcla un solo tipo de aminoácidos marcados radiactivamente. Después de investigar cada aminoácido –uno por vez– en 20 experimentos diferentes, determinaron que poli U dirige la síntesis de un péptido que contiene sólo fenilalanina (**Fig. 7-26**). Como en este mensaje UUU es el único codón, dedujeron que éste codifica fenilalanina. Se había descifrado la primera palabra del código genético.

Nirenberg y Matthaei repitieron el experimento con poli A y poli C, y determinaron que AAA codifica lisina, y CCC, prolina. Este método no permitió determinar el significado de poli G, ya que el polinucleótido formaba una cadena de triple hélice impar que no cooperaba como molde en el sistema acelular.

Alimentar los ribosomas con mRNA sintético pareció una técnica fructífera. Pero con un único nucleótido, las posibilidades se habían agotado: los investigadores tenían tres codones menos por decodificar, y aún 61 por investigar. Sin embargo, las otras combinaciones de codones fueron más difíciles de construir, y se requirió un nuevo enfoque de síntesis. En la década de 1950, el químico orgánico Gobind Khorana había desarrollado métodos para preparar polinucleótidos mezclados de secuencias definidas, pero su técnica sólo funcionaba para el DNA. Cuando conoció el trabajo de Nirenberg con los mensajes sintéticos, Khorana dirigió sus energías y habilidades para producir RNA. Observó que si producía DNA de una secuencia definida, podía utilizar luego la RNA polimerasa para producir RNA a partir de ellos. De este modo, Khorana preparó una serie de RNA diferentes con secuencias repetitivas determinadas. Generó secuencias de dinucleóti-

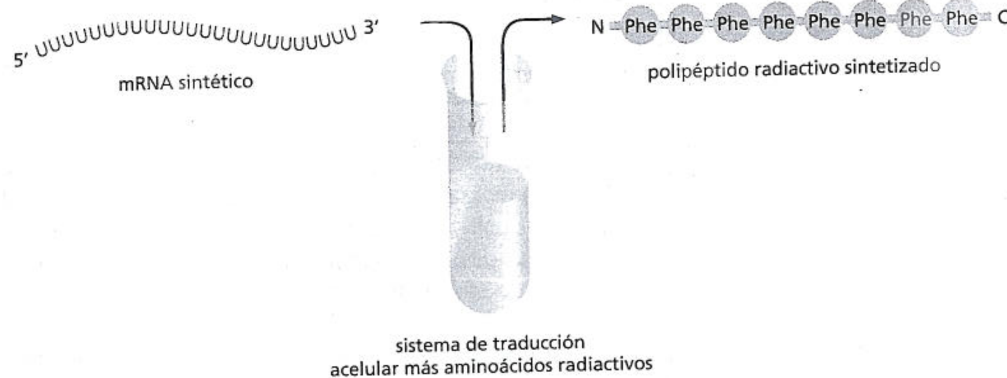


Figura 7-26. **UUU codifica fenilalanina.** Los mRNA sintéticos son colocados en un sistema de traducción acelular que contiene ribosomas, tRNA, enzimas y otras moléculas pequeñas. Se agregan aminoácidos radiactivos a esta mezcla y se analizan los polipéptidos resultantes. En este caso, se muestra que poli U codifica un polipéptido que contiene sólo fenilalanina.

dos (p. ej., poli UC), trinucleótidos (p. ej., poli UUC), y tetranucleótidos (p. ej., poli UAUC) repetitivos.

Sin embargo, estos polinucleótidos mezclados dieron resultados que fueron mucho más difíciles de descifrar que los mensajes de mononucleótidos que había utilizado Nirenberg. Considérese, por ejemplo, poli UG. Cuando se añadía este dinucleótido al sistema de traducción, los investigadores descubrieron que codificaba un polipéptido que alternaba residuos cisteína y valina. Por supuesto, este RNA contiene dos codones diferentes alternantes: UGU y GUG. Por lo tanto, los investigadores podían decir que UGU y GUG codifican cisteína y valina, pero no podían determinar cuál codificaba a cada una. Así, estos mensajes mixtos aportaron información útil, pero no revelaron definitivamente qué codones especificaban qué aminoácido (Fig. 7-27).

Atrapando los tripletes

Estas ambigüedades finales del código se resolvieron cuando Nirenberg y un joven graduado de medicina llamado Phil Leder descubrieron que fragmentos de RNA que tenían sólo tres nucleótidos de longitud el tamaño de un solo codón– se podían unir a un ribosoma y atraer a la molécula de tRNA cargada con el aminoácido apropiado hacia la maquinaria productora de proteínas. Después, se podían capturar estos complejos que contenían un ribosoma, un codón de mRNA y un aminoacil-tRNA marcado radiactivamente sobre un papel de filtro e identificar el aminoácido unido.

Su ensayo con UUU –la primera palabra– funcionó espléndidamente. Leder y Nirenberg cebaron el sistema de traducción acelular habitual con fragmentos de UUU. Estos trinucleótidos se unían a los ribosomas, y los PhetRNA se unían a UUU. El nuevo sistema estaba en funcionamiento, y los investigadores confirmaron que UUU codificaba fenilalanina.

Todo lo que quedaba por hacer era que los investigadores produjeran los 64 codones posibles, una tarea que se llevó a cabo con rapidez en los laboratorios de Nirenberg y Khorana. Como estos pequeños trinucleótidos fueron mucho más simples de sintetizar químicamente, y las pruebas para atrapar tripletes resultaron más fáciles de realizar y de analizar que los experimentos previos de decodificación, estos investigadores pudieron descifrar todo el código genético en el curso del siguiente año.

MENSAJE	PÉPTIDOS PRODUCIDOS	ASIGNACIONES DE CODONES	
poli UG	...Cys–Val–Cys–Val...	UGU GUG	Cys, Val*
poli AG	...Arg–Glu–Arg–Glu...	AGA GAG	Arg, Glu
poli UUC	...Phe–Phe–Phe... + ...Ser–Ser–Ser... + ...Leu–Leu–Leu...	UUC UCU CUU	Phe, Ser, Leu
poli UAUC	...Tyr–Leu–Ser–Ile...	UAU CUA UCU AUC	Tyr, Leu, Ser, Ile

* Un codón especifica Cys, el otro, Val. Existe la misma ambigüedad para las otras asignaciones de codones aquí mostradas.

Figura 7-27. **Los mensajes de secuencias repetitivas mezcladas limitaron aún más las posibilidades de codificación.** Aunque estos mensajes mezclados revelan la composición de los péptidos codificados, no permitieron la asignación inequívoca de un solo codón a un aminoácido específico. Por ejemplo, los resultados del experimento con poli UG no permiten distinguir si UGU o GUG codifica cisteína. Como se indicó, se observa el mismo tipo de ambigüedad para todos los experimentos que utilizan dinucleótidos, trinucleótidos y tetranucleótidos.

la, que es el sitio donde el aminoácido que se corresponde con el codón se une al tRNA.

En la sección anterior se mencionó que el código genético es redundante; es decir, varios codones diferentes pueden especificar un solo aminoácido (véase Fig. 7-24). Esta redundancia implica que hay más de un tRNA para muchos de los aminoácidos o que algunas moléculas de tRNA pueden aparear sus bases con más de un codón. De hecho, se producen ambas situaciones. Algunos aminoácidos tienen más de un tRNA, y algunos tRNA están compuestos de modo que sólo requieren un apareamiento de bases preciso en las dos primeras posiciones del codón y pueden tolerar un error de apareamiento (o *titubeo*) en la tercera posición. Este titubeo del apareamiento de bases explica por qué tantos de los codones alternativos para un aminoácido difieren sólo en su tercer nucleótido (véase Fig. 7-24). Este fenómeno posibilita adaptar los 20 aminoácidos a sus 61 codones con tan solo 31 tipos de moléculas de tRNA. Sin embargo, la cantidad exacta de distintas clases de tRNA difiere de una especie a otra. Por ejemplo, los seres humanos tienen casi 500 genes de tRNA diferentes, pero entre ellos sólo están representados 48 anticodones.

Enzimas específicas acoplan los tRNA al aminoácido correcto

Se ha visto que para leer el código genético del DNA, la célula produce muchos tRNA diferentes. Ahora se debe considerar cómo *se carga* cada molécula de tRNA, es decir, cómo se une a un aminoácido de los 20 que es su pareja correcta. El reconocimiento y la unión del aminoácido correcto dependen de enzimas denominadas **aminoacil-tRNA sintetasas**, que acoplan covalentemente a cada aminoácido con su grupo

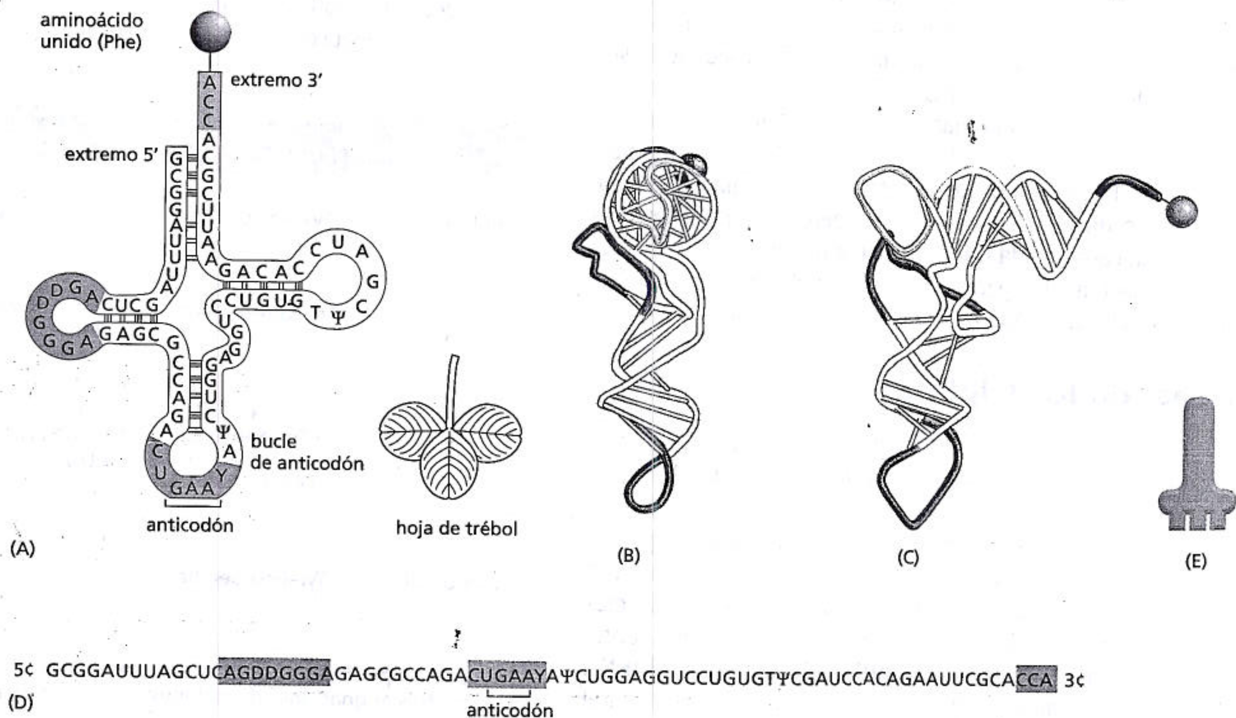


Figura 7-28. Los tRNA son adaptadores moleculares, que unen los aminoácidos a los codones. En esta serie de esquemas, la misma molécula de tRNA –en este caso un tRNA específico para el aminoácido fenilalanina (Phe)– es representada de varios modos. (A) Estructura en hoja de trébol, una convención utilizada para representar el apareamiento de bases complementarias (*líneas rojas*) que crea las regiones de doble hélice de la molécula. El anticodón (*rojo*) es la secuencia de tres nucleótidos que aparea sus bases con un codón del mRNA. El aminoácido que se corresponde con el par codón/anticodón es unido al extremo 3´ del tRNA. El tRNA contiene algunas bases inusuales, que son producidas por una modificación química después de la síntesis del tRNA. Las bases indicadas por Ψ (para la seudouridina) y D (para la dihidrouridina) derivan del uracilo. (B y C) Esquemas de la molécula real con forma de L, basados en el análisis por difracción de rayos X. Estas imágenes están rotadas 90° una con respecto a la otra. (D) Secuencia lineal de nucleótidos de la molécula, codificada por color para que se correspondan con A, B y C. (E) Representación esquemática del tRNA, que destaca el anticodón b, que se utiliza en figuras posteriores.

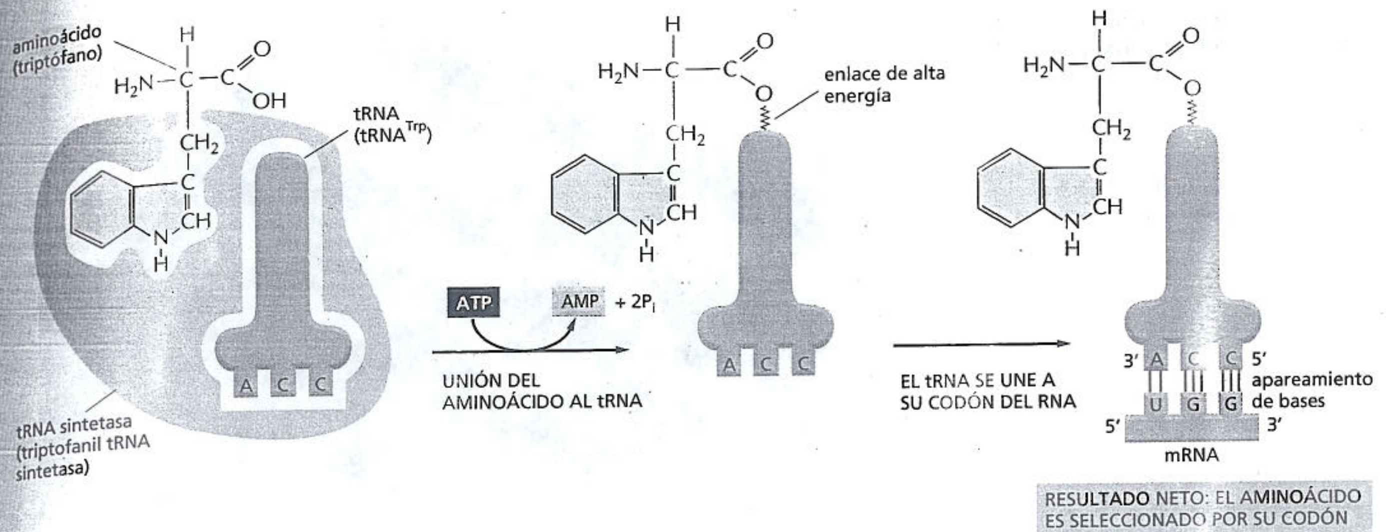


Figura 7-29. El código genético es traducido por medio de dos adaptadores que actúan en forma sucesiva. El primer adaptador es la aminoacil-tRNA sintetasa, que acopla un aminoácido particular a su tRNA correspondiente; este proceso de acoplamiento se denomina carga. El segundo adaptador es la propia molécula de tRNA, cuyo anticodón aparea sus bases con el codón apropiado del mRNA. Un tRNA acoplado con su aminoácido también se denomina tRNA cargado. Un error en cualquiera de los pasos la carga o la unión del tRNA cargado a su codón– hará que se incorpore un aminoácido incorrecto a una cadena proteica. En la secuencia de eventos mostrada, el aminoácido triptófano (Trp) es seleccionado por el codón UGG del mRNA.

apropiado de moléculas de tRNA. Hay una sintetasa diferente para cada aminoácido (es decir, hay 20 sintetasas en total); una incorpora glicina a todos los tRNA que reconocen codones para glicina, otra une fenilalanina a todos los tRNA que reconocen codones para fenilalanina, etcétera. Nucleótidos específicos tanto en el brazo del anticodón como en el brazo aceptor de aminoácidos permiten que la sintetasa pueda reconocer el tRNA correcto (Película 7.6). Las sintetasas tienen la misma importancia que los tRNA en el proceso de decodificación, porque la acción combinada de las sintetasas y de los tRNA permite que cada codón de la molécula de mRNA se asocie con su aminoácido apropiado (Fig. 7-29).

La reacción catalizada por la sintetasa que une el aminoácido al extremo 3´ del tRNA es una de las múltiples reacciones celulares acopladas a la liberación de energía por hidrólisis del ATP (véase Fig. 3-34) y produce un enlace de alta energía entre el tRNA cargado y el aminoácido. La energía de este enlace se utiliza en una etapa posterior de la síntesis proteica para unir covalentemente el aminoácido a la cadena polipeptídica en crecimiento.

El RNA mensajero es decodificado en los ribosomas

El reconocimiento de un codón por el anticodón de la molécula de tRNA depende del mismo tipo de apareamiento de bases complementarias utilizado en la replicación y transcripción del DNA. Sin embargo, la traducción rápida y precisa del mRNA a proteína exige una gran maquinaria molecular, que se desplaza a lo largo del mRNA, captura moléculas de tRNA complementarias, las mantiene en posición y une covalentemente los aminoácidos que transportan de manera de formar una cadena proteica. Esta máquina de fabricación de proteínas es el **ribosoma**, un gran complejo compuesto por más de 50 proteínas diferentes (las *proteínas ribosómicas*) y varias moléculas de RNA denominadas **RNA ribosómicos (rRNA)**. Una célula viva típica contiene millones de ribosomas en su citoplasma (Fig. 7-30).

Los ribosomas de eucariontes y procariontes son muy similares en su estructura y función. Ambos están formados por una subunidad grande y una pequeña que se encajan y forman un ribosoma completo con una masa de varios millones de dalton (Fig. 7-31); en comparación, una proteína de tamaño promedio tiene una masa de 40.000 dalton. La subunidad pequeña hace coincidir los tRNA con los codones del mRNA, mientras que la subunidad grande cataliza la formación de enlaces peptídicos que unen en forma covalente a los aminoácidos entre sí y forman una cadena polipeptídica. Las dos subunidades se reúnen sobre una molécula de mRNA, en general cerca de su comienzo (extremo 5´), e inician la síntesis de una proteína. Luego, el mRNA es arrastrado por el ribosoma como un largo trozo de cinta. A medida que el mRNA se mueve a través de éste, el ribosoma traduce la secuencia de nucleótidos a una secuencia de aminoácidos de a un codón

PREGUNTA 7-4

En un inteligente experimento realizado en 1962, se convirtió químicamente una cisteína ya unida a su tRNA en alanina. Después, se agregaron estas moléculas de tRNA "híbridas" a un sistema de traducción acelular del que se habían eliminado las cisteínas-tRNA normales. Cuando se analizó la proteína resultante, se halló que la alanina había sido insertada en cada punto de la cadena proteica donde se suponía que debía estar la cisteína. Analice qué nos dice este experimento acerca del papel de la aminoacil-tRNA sintetasa durante la traducción normal del código genético.

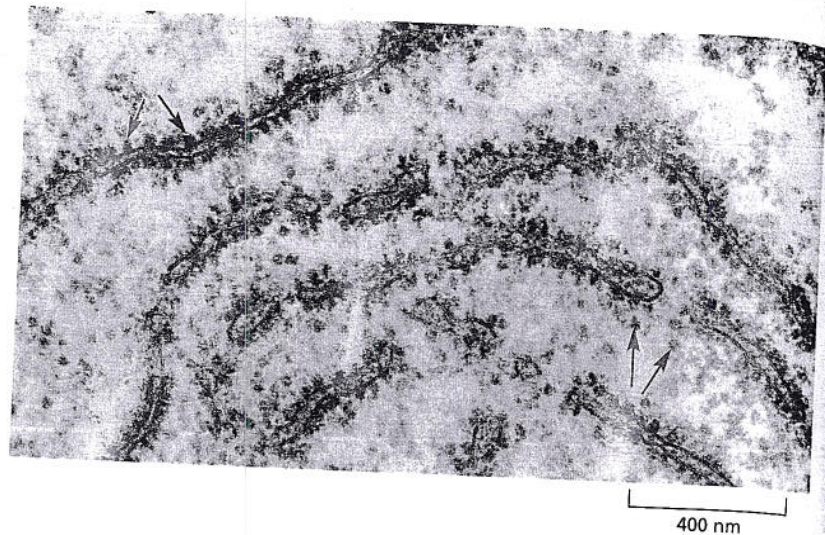


Figura 7-30. Los ribosomas se encuentran en el citoplasma de una célula eucarionte. Esta microfotografía electrónica muestra un corte fino de una pequeña región del citoplasma. Los ribosomas aparecen como puntos negros (flechas *rojas*). Algunos están libres en el citosol, y otros se hallan unidos a las membranas del retículo endoplasmático. (Cortesía de George Palade).

por vez y utiliza los tRNA como adaptadores. Así, se agrega cada aminoácido en la secuencia correcta al extremo de la cadena polipeptídica en crecimiento (Película 7.7). Por último, las dos subunidades del ribosoma se separan cuando la síntesis de la proteína ha finalizado. Los ribosomas funcionan con notable eficiencia; un ribosoma de una célula eucarionte agrega alrededor de 2 aminoácidos por segundo a una cadena polipeptídica; los ribosomas bacterianos funcionan aun más rápido, a un promedio de unos 20 aminoácidos por segundo.

¿Cómo hace el ribosoma la coreografía de todos los movimientos requeridos para la traducción? Cada ribosoma contiene un sitio de unión para una molécula de mRNA y tres sitios de unión para las moléculas de tRNA, denominados sitio A,

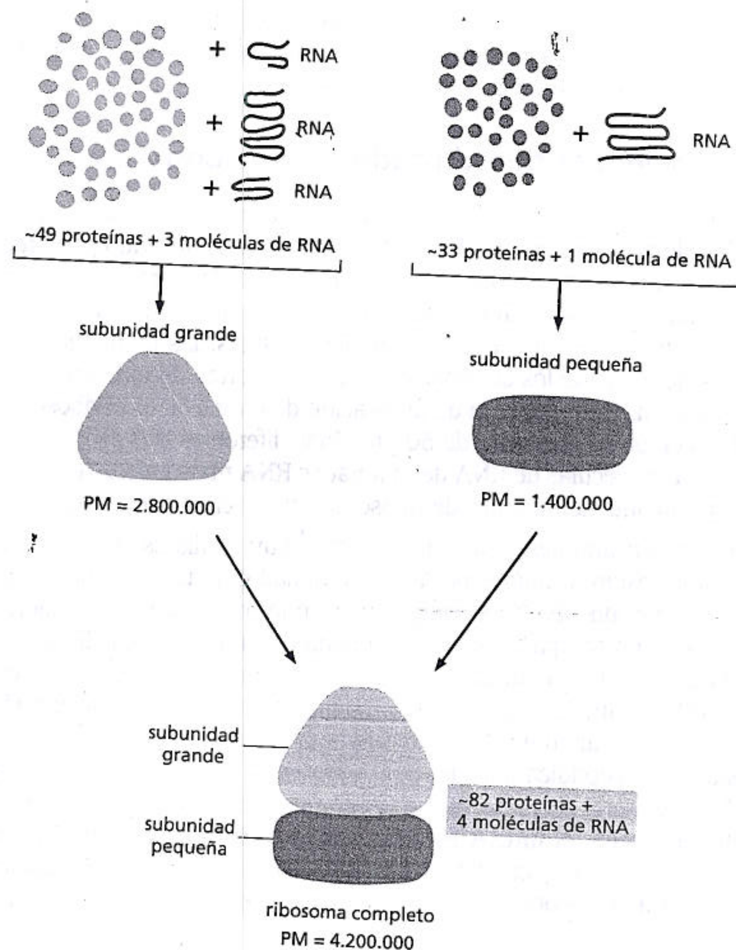


Figura 7-31. Un ribosoma es un gran complejo de cuatro RNA y más de 80 proteínas. Aquí se muestran los componentes de los ribosomas eucariontes. Los ribosomas procariontes son muy similares. Aunque las proteínas ribosómicas superan en gran número a los RNA ribosómicos, éstos representan más de la mitad de la masa del ribosoma.

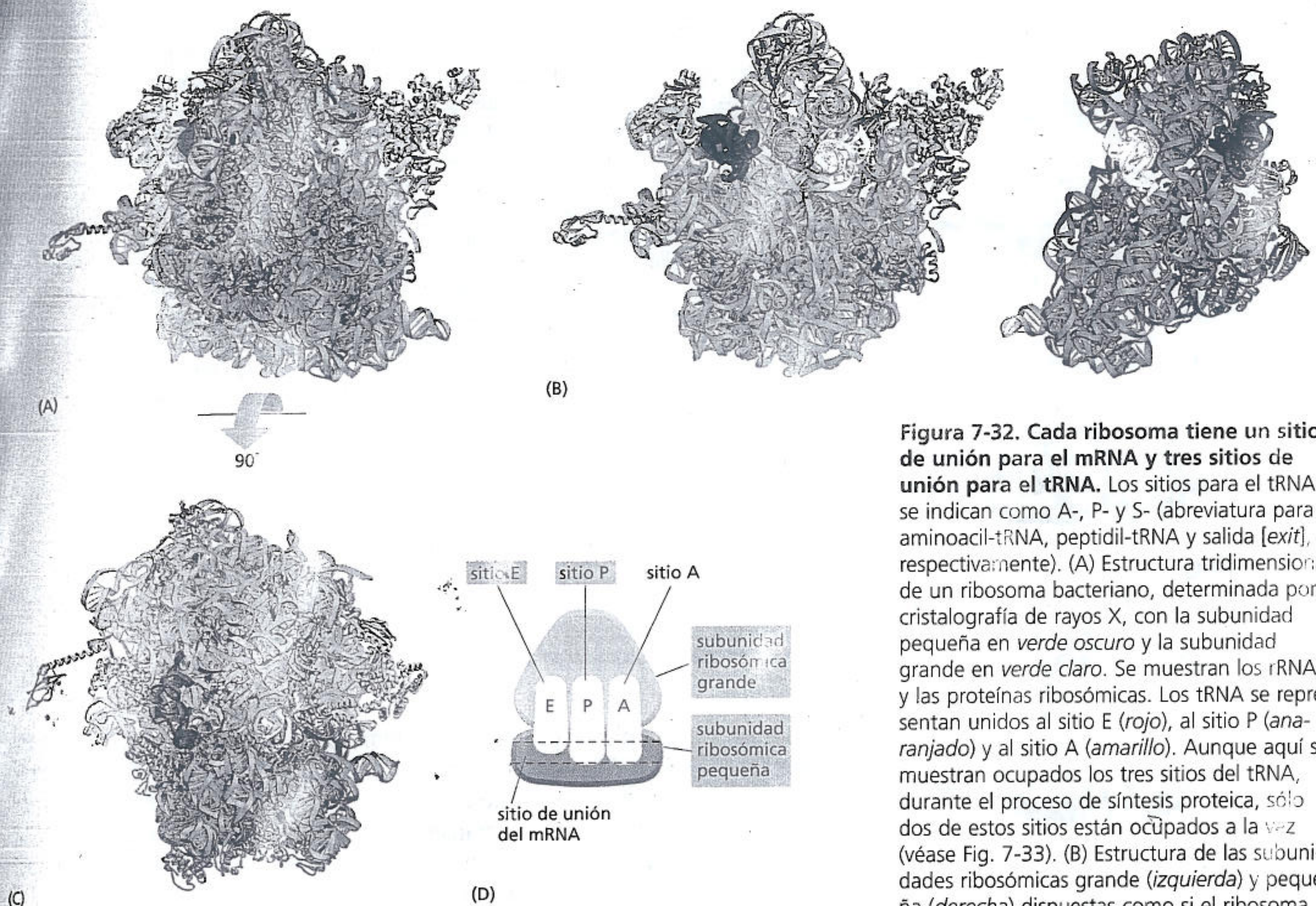


Figura 7-32. Cada ribosoma tiene un sitio de unión para el mRNA y tres sitios de unión para el tRNA. Los sitios para el tRNA se indican como A-, P- y S- (abreviatura para aminoacil-tRNA, peptidil-tRNA y salida [*exit*], respectivamente). (A) Estructura tridimensional de un ribosoma bacteriano, determinada por cristalografía de rayos X, con la subunidad pequeña en *verde oscuro* y la subunidad grande en *verde claro*. Se muestran los rRNA y las proteínas ribosómicas. Los tRNA se representan unidos al sitio E (*rojo*), al sitio P (*anaranjado*) y al sitio A (*amarillo*). Aunque aquí se muestran ocupados los tres sitios del tRNA, durante el proceso de síntesis proteica, sólo dos de estos sitios están ocupados a la vez (véase Fig. 7-33). (B) Estructura de las subunidades ribosómicas grande (*izquierda*) y pequeña (*derecha*) dispuestas como si el ribosoma de (A) estuviera abierto como un libro. (C) Vista superior de la estructura del ribosoma de (A). (D) Representación muy esquemática de un ribosoma (en la misma orientación que C), que será utilizada en figuras posteriores (A, B y C, adaptado de M. M. Yusupov y col., *Science* 292:883-896, 2001, con autorización de AAAS. Cortesía de Albion Bausom y Harry Noller).

sitio P y sitio E (Fig. 7-32). Para añadir un aminoácido a una cadena polipeptídica en crecimiento, el tRNA cargado apropiado ingresa en el sitio A por apareamiento de bases con el codón complementario de la molécula de mRNA. Después, su aminoácido es unido a la cadena peptídica sostenido por el tRNA en el sitio P vecino. A continuación, el ribosoma se desplaza, y el tRNA utilizado es movido al sitio E antes de ser eyectado (Fig. 7-33). Este ciclo de reacciones se repite cada vez que se agrega un aminoácido a la cadena polipeptídica, que crece de su extremo amino a su extremo carboxilo hasta que encuentra un codón de terminación.

El ribosoma es una ribozima

El ribosoma es una de las estructuras más grandes y más complejas de la célula, y está formado por dos tercios de RNA y un tercio de proteína. La determinación, en el 2000, de toda la estructura tridimensional de sus subunidades grande y pequeña fue un triunfo importante de la biología moderna. La estructura confirma evidencia previa de que los rRNA –no las proteínas– son responsables de la estructura general del ribosoma y de su capacidad para hacer la coreografía de la síntesis proteica.

Los rRNA se pliegan en estructuras tridimensionales precisas y muy compactas que forman el centro del ribosoma (Fig. 7-34). En marcado contraste con la posición central del rRNA, las proteínas ribosómicas suelen estar localizadas sobre la superficie, donde ocupan los espacios y las hendiduras del RNA plegado. El papel principal de las proteínas ribosómicas parece ser el de plegar y estabilizar el centro de RNA, pero permitir, a la vez, los cambios en la conformación del rRNA necesarios para que catalice la síntesis eficiente de proteínas.

No sólo los tres sitios de unión para los tRNA (los sitios A, P y E) del ribosoma están compuestos fundamentalmente por los rRNA, sino que el sitio catalítico para

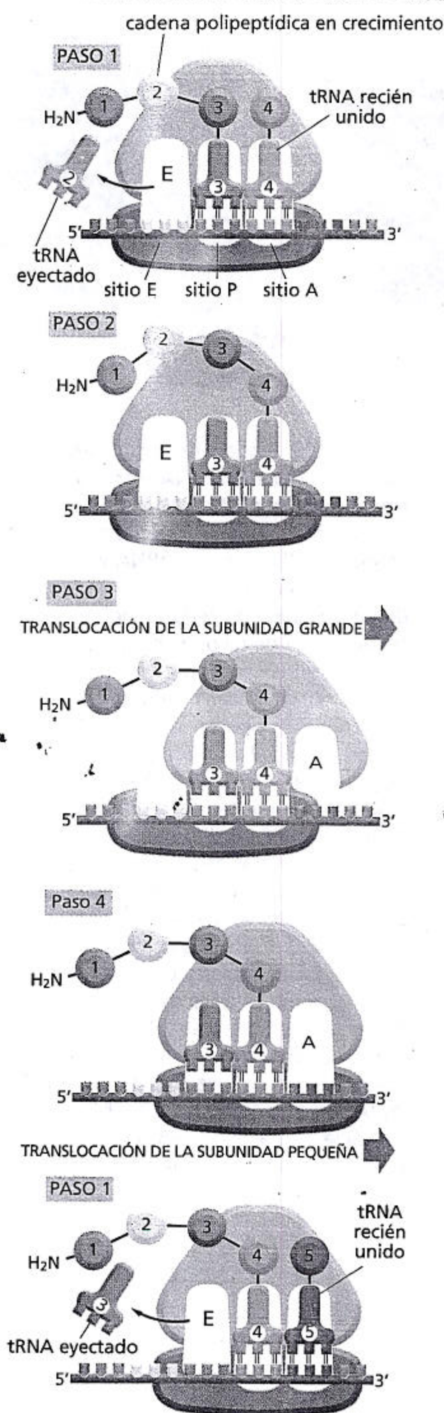


Figura 7-33. La traducción se realiza en un ciclo de cuatro pasos. Este ciclo se repite una y otra vez durante la síntesis de una proteína. En el paso 1, un tRNA que lleva el siguiente aminoácido de la cadena se une al sitio A vacante del ribosoma formando pares de bases con el codón allí expuesto. Como sólo uno de los muchos tipos de moléculas de tRNA de una célula puede aparear sus bases con cada codón, este codón determina el aminoácido específico que será agregado a la cadena polipeptídica en crecimiento. Los sitios A- y P- están lo bastante cerca para que sus dos moléculas de tRNA se vean forzadas a formar pares de bases con codones contiguos, sin bases perdidas entre ellos. Esta posición de los tRNA asegura que se preserve el marco de lectura correcto durante toda la síntesis de la proteína. En el paso 2, el extremo carboxilo de la cadena polipeptídica no está acoplada con el tRNA en el sitio P y está unida por un enlace peptídico al grupo amino libre del aminoácido ligado al tRNA en el sitio A. Esta reacción es catalizada por un sitio enzimático de la subunidad grande. En el paso 3, un desplazamiento de la subunidad grande respecto de la subunidad pequeña mueve a los dos tRNA hacia los sitios E- y P- de la subunidad grande. En el paso 4, la subunidad pequeña, se mueve exactamente tres nucleótidos a lo largo de la molécula de mRNA, lo que reestablece su posición original respecto de la subunidad grande. Este movimiento reajusta al ribosoma con un sitio A vacío, de manera que se pueda unir la siguiente molécula de aminoacil-tRNA (Película 7.8). Según se indica, el mRNA es traducido en dirección 5′-3′, y el extremo N-terminal de una proteína se fabrica primero, y cada ciclo agrega un aminoácido al extremo C-terminal de la cadena polipeptídica. Véase el ciclo de traducción en detalle atómico en la Película 7.9.

la formación de enlaces peptídicos está formado por el RNA 23S de la subunidad grande; el aminoácido más cercano se halla demasiado lejos para hacer contacto con el aminoacil-tRNA entrante o con la cadena polipeptídica en crecimiento. El sitio catalítico de esta peptidil transferasa basada en RNA es similar en muchos aspectos al hallado en algunas enzimas proteicas: se trata de un receptáculo altamente estructurado que orienta con precisión a los dos reactivos –el péptido que se está elongando y el tRNA cargado– lo que aumenta mucho la probabilidad de una reacción productiva.

Las moléculas de RNA que tienen actividad catalítica se denominan **ribozimas**. En la última sección de este capítulo, se consideran otras ribozimas y se analiza el posible significado de la catálisis basada en el RNA en la evolución temprana de la vida sobre la Tierra. Aquí, sólo cabe observar que hay una buena razón para presumir que el RNA, más que las moléculas de proteína, sirvió como el primer catalizador de las células vivas. De ser así, el ribosoma, con su centro de RNA, se podría considerar una reliquia de un tiempo temprano en la historia de la vida, cuando las células eran dirigidas casi enteramente por ribozimas.

Los codones del mRNA señalan dónde empieza y dónde termina la síntesis proteica

Aunque en el tubo de ensayo los ribosomas pueden ser forzados a traducir cualquier RNA (véase Biología experimental, pp. 248-249), en la célula se requiere una señal de iniciación específica. El sitio donde comienza la síntesis proteica en el mRNA es crucial porque establece el marco de lectura para toda la longitud del mensaje. En esta etapa, un error de un nucleótido en cualquier dirección determinará que todos los codones siguientes sean mal leídos, lo que producirá una proteína no funcional con una secuencia tergiversada de aminoácidos (véase Fig. 7-27). El paso de iniciación también es de gran importancia en otro aspecto, ya que es el último punto en el que la célula puede decidir si el mRNA será traducido; por lo tanto, la velocidad de iniciación determina la velocidad con la que es sintetizada la proteína.

La traducción de un mRNA comienza con el codón AUG, y se requiere un tRNA especial para iniciar la traducción. Este **tRNA iniciador** siempre transporta el aminoácido metionina (o una forma modificada de metionina, formilmetionina, en las bacterias), de manera que todas las proteínas recién sintetizadas tienen metioni-

PREGUNTA 7-5

La siguiente secuencia de nucleótidos de una cadena de DNA se utilizó como molde para sintetizar un mRNA que luego fue traducido a proteína: 5′-TTAACGGCTTTTTTC-3′. Anticipe el aminoácido C-terminal y el aminoácido N-terminal del polipéptido resultante. Asuma que el mRNA es traducido sin la necesidad de un codón de iniciación.

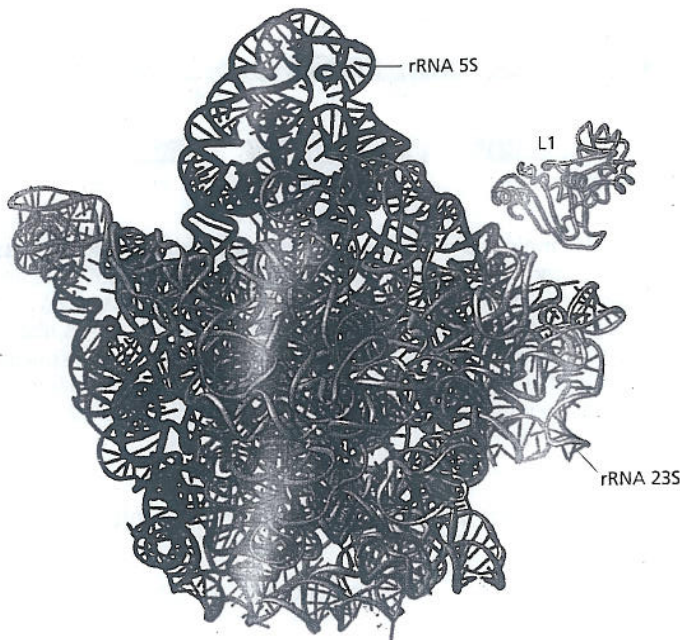


Figura 7-34. Los RNA ribosómicos le otorgan al ribosoma su forma global. Aquí se muestran las estructuras detalladas de dos rRNA, el rRNA 23S (*azul*) y el rRNA 5S (*púrpura*), que forman el centro de la subunidad grande de los ribosomas bacterianos. Una de las subunidades proteicas del ribosoma (L1) es incluida como punto de referencia, ya que esta proteína forma una protrusión característica en la superficie del ribosoma. Los componentes ribosómicos se suelen designar por sus "valores S", que se refieren a su velocidad de sedimentación por ultracentrifugación. (Adaptado de N. Ban y col., *Science* 289:905-920, 2000. Con autorización de AAAS).

na como primer aminoácido en su extremo N-terminal, el extremo de la proteína que se sintetiza primero. Por lo general, esta metionina es eliminada más tarde por una proteasa específica. El tRNA iniciador es distinto del tRNA que normalmente transporta la metionina.

En los eucariontes, el tRNA iniciador, acoplado a metionina, es cargado en primer lugar en la subunidad ribosómica pequeña junto con otras proteínas denominadas **factores de iniciación de la traducción** (Fig. 7-35). De todos los tRNA cargados de la célula, sólo el tRNA iniciador es capaz de unirse estrechamente al sitio P de la subunidad ribosómica pequeña. A continuación, la subunidad ribosómica cargada se une al extremo 5´ de una molécula de mRNA, que está señalada por el casquete presente en el mRNA eucarionte (véase Fig. 7-16). Después, la subunidad ribosómica pequeña avanza (de 5´ a 3´) a lo largo del mRNA y busca el primer AUG. Cuando lo encuentra, varios factores de iniciación se disocian de la subunidad ribosómica pequeña y permiten el ensamblaje de la subunidad ribosómica grande a fin de completar el ribosoma. Como el tRNA iniciador está unido al sitio P, la síntesis de la proteína está lista para comenzar con la adición al sitio A del siguiente tRNA cargado (véase Fig. 7-35).

El mecanismo para la selección de un codón de iniciación es diferente en las bacterias. Los mRNA bacterianos no tienen casquetes 5´ que indiquen al ribosoma dónde debe comenzar a buscar para iniciar la traducción. En cambio, contienen secuencias específicas de unión a los ribosomas, de hasta seis nucleótidos de longitud, que están localizadas unos pocos nucleótidos corriente arriba de los AUG en los que debe comenzar la traducción. A diferencia del ribosoma eucarionte, el ribosoma procarionte puede unirse directamente, con facilidad, al codón de iniciación que se localiza en el interior de un mRNA, en tanto que un sitio de unión al ribosoma lo preceda en varios nucleótidos. Estas secuencias de unión al ribosoma son necesarias en bacterias porque es frecuente que los mRNA procariontes sean *policistrónicos*, es decir, que codifiquen varias proteínas diferentes, cada una de las cuales es traducida a partir de la misma molécula de mRNA (Fig. 7-36). En

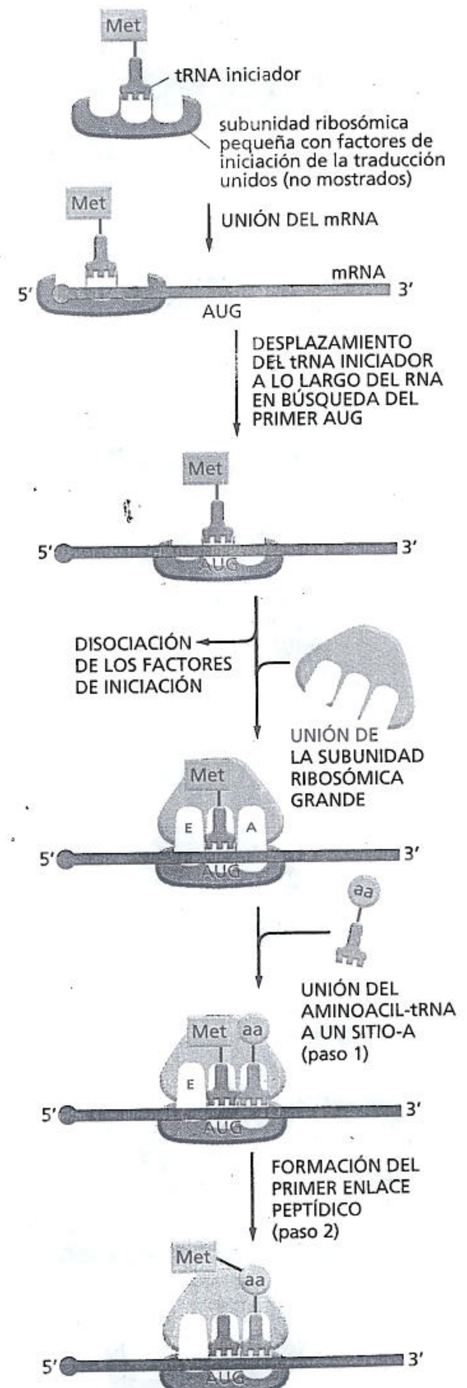


Figura 7-35. El comienzo de la síntesis de proteínas en eucariontes requiere factores de iniciación y un tRNA iniciador especial. Aunque aquí no se muestra, la iniciación eficiente de la traducción también requiere proteínas adicionales (como se muestra en la Fig. 7-22) que se unen al casquete 5´ y a la cola de poli-A del mRNA. De tal modo, el aparato de traducción puede verificar que ambos extremos del RNA estén intactos antes de comenzar la traducción. Después del inicio, la proteína es elongada mediante las reacciones reseñadas en la figura 7-33.

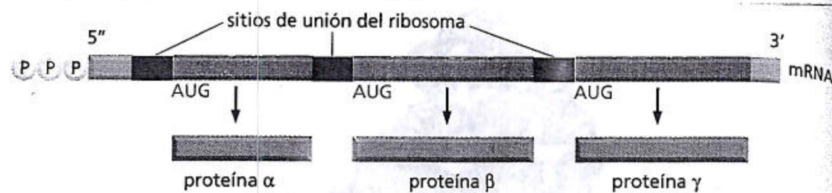


Figura 7-36. Una única molécula de mRNA procarionte puede codificar varias proteínas diferentes. En los procariontes, los genes que rigen los diferentes pasos de un proceso suelen estar organizados en grupos (operones) que son transcriptos juntos a un solo mRNA. A diferencia de los ribosomas eucariontes, que reconocen un casquete 5′, los ribosomas procariontes inician la transcripción en los sitios de unión al ribosoma (*rojo*), que pueden estar localizados en el interior de una molécula de mRNA. Esta característica permite que los procariontes sinteticen más de un tipo de proteína a partir de una sola molécula de mRNA.

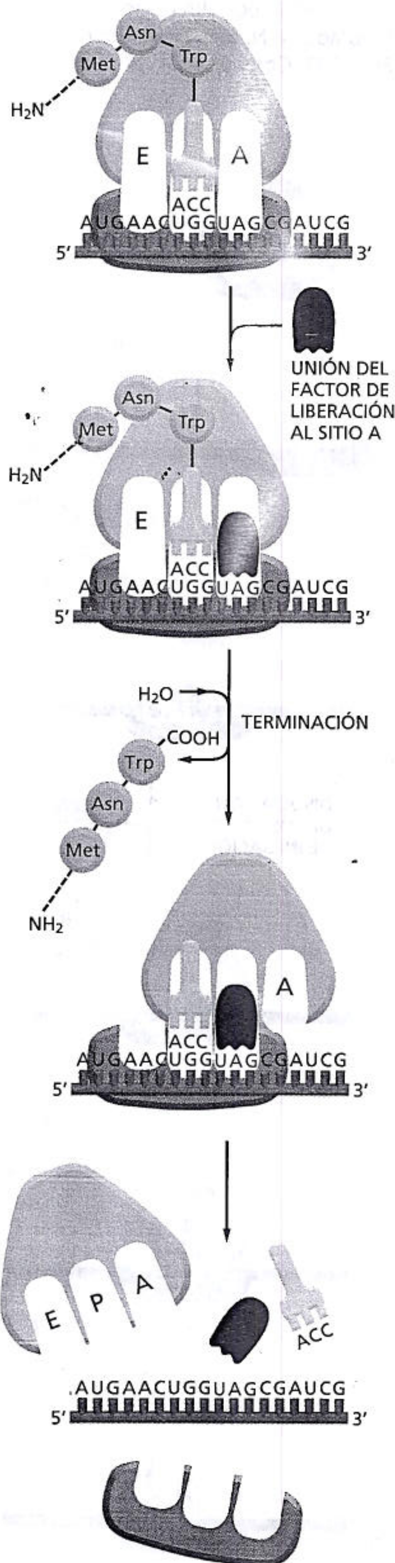


Figura 7-37. En la fase final de la síntesis proteica, la unión de un factor de liberación a un sitio A que presenta un codón de terminación finaliza la traducción. El polipéptido completo es liberado y el ribosoma se disocia en sus dos subunidades.

cambio, el mRNA eucarionte transporta habitualmente la información para una sola proteína.

La presencia de uno de varios codones denominados *codones de terminación* (véase Fig. 7-26) señala, tanto en procariontes como en eucariontes, el final del mensaje de codificación de una proteína. Estos codones especiales –UAA, UAG y UGA– no son reconocidos por un tRNA y no especifican un aminoácido, sino que indican al ribosoma que termine la traducción. Las proteínas conocidas como *factores de liberación* se unen a cualquier codón de terminación que alcance el sitio A del ribosoma, y esta unión modifica la actividad de la peptidil transferasa ribosómica, lo que hace que catalice el agregado de una molécula de agua en lugar de un aminoácido al peptidil-tRNA (Fig. 7-37). Esta reacción libera el extremo carboxilo de la cadena polipeptídica de su unión a una molécula de tRNA, y como ésta es la única unión entre el polipéptido en crecimiento y el ribosoma, la cadena proteica terminada es liberada de inmediato al citosol. El ribosoma libera el mRNA y se disocia en sus dos subunidades, que después pueden ensamblarse con otra molécula de mRNA y comenzar una nueva ronda de síntesis proteica.

En el capítulo 4, se comentó que muchas proteínas se pueden plegar espontáneamente en su forma tridimensional, y que algunas lo hacen mientras son alargadas en el ribosoma. Sin embargo, la mayoría de las proteínas requieren *chaperonas moleculares* que ayudan a plegarse correctamente en la célula. Las chaperonas mejor estudiadas realizan rondas sucesivas de hidrólisis de ATP lo que permite unirse y liberar en forma continua proteínas recién sintetizadas hasta que están apropiadamente plegadas. Esta manipulación 'conduce' a las proteínas por vías de plegamiento productivas al impedir que formen agregados o estructuras mal plegadas. Por lo general, las proteínas recién sintetizadas se encuentran con sus chaperonas a medida que salen del ribosoma.

Las proteínas son elaboradas en polirribosomas

La síntesis de la mayor parte de las moléculas proteicas demanda de veinte segundos a varios minutos. Pero aun durante este período muy breve, suele haber múltiples iniciaciones en cada molécula de mRNA que está siendo traducida. Si el mRNA es traducido de manera eficiente, un nuevo ribosoma alcanza el extremo 5′ de la molécula de mRNA casi tan pronto como el ribosoma precedente ha traducido lo suficiente de la secuencia de nucleótidos para apartarse del camino. Por lo tanto, las moléculas de mRNA que están siendo traducidas suelen hallarse en

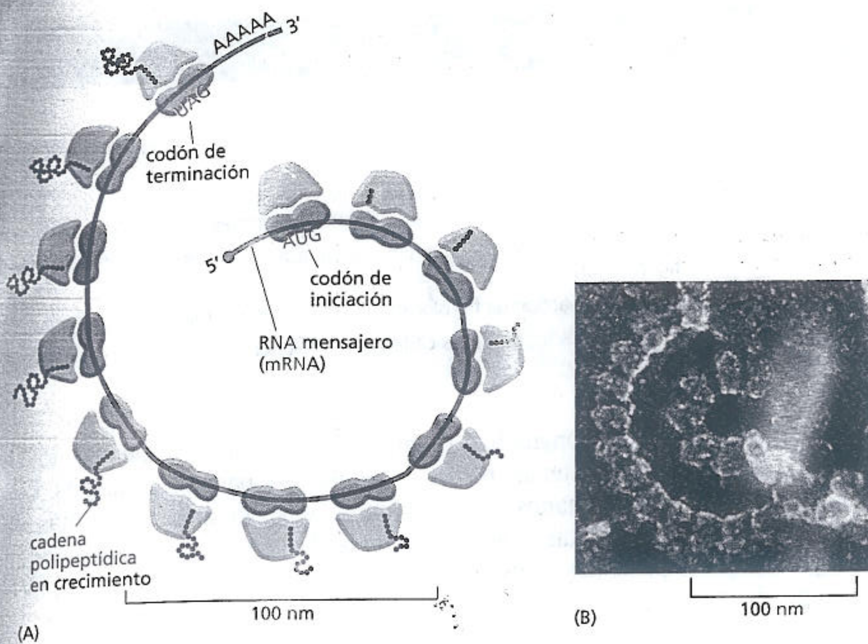


Figura 7-38. Las proteínas son traducidas por polirribosomas. (A) Esquema que muestra cómo una serie de ribosomas pueden traducir simultáneamente la misma molécula de mRNA (Película 7.10). (B) Microfotografía electrónica de un polirribosoma de una célula eucarionte. (B, cortesía de John Heuser).

forma de *polirribosomas* (también conocidos como *polisomas*), grandes ensamblajes citoplasmáticos formados por varios ribosomas separados por tan solo 80 nucleótidos a lo largo de una única molécula de mRNA (Fig. 7-38). Estas múltiples iniciaciones implican que se pueden producir muchas más moléculas de proteína en un tiempo determinado de lo que sería posible si cada una tuviera que ser completada antes que pudiera comenzar la siguiente.

Tanto las bacterias como los eucariontes tienen polisomas, pero las bacterias pueden acelerar aun más la velocidad de síntesis proteica. Como el mRNA bacteriano no necesita ser procesado y también es físicamente accesible a los ribosomas mientras está siendo producido, los ribosomas se suelen unir al extremo libre de una molécula de mRNA bacteriano y comienzan a traducirlo incluso antes de que la transcripción de este RNA se haya completado; estos ribosomas siguen muy de cerca a la RNA polimerasa a medida que ésta se mueve a lo largo del DNA.

Los inhibidores de la síntesis de proteínas procariontes se utilizan como antibióticos

La capacidad de traducir con exactitud mRNA a proteínas es una característica fundamental de todas las formas de vida sobre la Tierra. Aunque el ribosoma y otras moléculas que llevan a cabo esta enorme tarea son muy similares entre los organismos, hay algunas sutiles diferencias, como se ha visto, en la síntesis proteica de bacterias y eucariontes. Debido a una peculiaridad de la evolución, estas diferencias forman la base de uno de los avances más importantes de la medicina moderna.

Muchos de los antibióticos más eficaces son compuestos que actúan mediante la inhibición de la síntesis proteica bacteriana, pero no de la eucarionte. Algunos de estos fármacos aprovechan las pequeñas diferencias estructurales y funcionales entre los ribosomas bacterianos y eucariontes, de modo que interfieren de manera preferencial con la síntesis proteica bacteriana. Así, pueden ser administrados en altas dosis sin que resulten tóxicos para los seres humanos. Como los diferentes antibióticos se unen a distintas regiones del ribosoma bacteriano, estos fármacos con frecuencia inhiben distintos pasos de la síntesis proteica. El cuadro 7-3 enumera algunos de los antibióticos más comunes de este tipo.

Muchos antibióticos comunes se aislaron por primera vez a partir de hongos. Los hongos y las bacterias suelen ocupar los mismos nichos ecológicos; para ganar un

CUADRO 7-3 ANTIBIÓTICOS QUE INHIBEN LA SÍNTESIS PROTEICA O DE RNA

ANTIBIÓTICO	EFECTO ESPECÍFICO
Tetraciclina	Bloquea la unión del aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma (paso 1 de la figura 7-33).
Estreptomicina	Impide la transición del complejo de iniciación al ribosoma que alarga la cadena (véase figura 7-35); también provoca errores de codificación.
Cloranfenicol	Bloquea la reacción de la peptidil transferasa en los ribosomas (paso 2 de la figura 7-33).
Cicloheximida	Bloquea la reacción de translocación en los ribosomas (paso 3 de la figura 7-33).
Rifamicina	Bloquea la iniciación de las cadenas de RNA por unión a la RNA polimerasa.

margen competitivo, los hongos han desarrollado, a lo largo del tiempo, toxinas potentes que destruyen bacterias, pero que son inocuas para ellos mismos. Como los hongos y los seres humanos son eucariontes, y por lo tanto, están más relacionados entre sí que cualquiera de ambos con las bacterias (véase Fig. 1-29), ha sido posible pedir prestados estos compuestos para combatir a nuestros propios enemigos bacterianos.

La degradación proteica controlada cuidadosamente ayuda a regular la cantidad de cada proteína en una célula

Después que una proteína es liberada del ribosoma, la célula la somete a una serie de controles. El número de copias de una proteína en una célula depende, como la población humana, no sólo de con cuanta rapidez se generan nuevos individuos, sino también de cuánto tiempo sobreviven. Así, la degradación de las proteínas en sus aminoácidos componentes es una manera de regular la cantidad de una determinada proteína en un momento dado. El período de vida de las proteínas es enormemente variable. Las proteínas estructurales que forman parte de tejidos permanentes, como el hueso o el músculo, pueden durar meses o incluso años, mientras que otras proteínas, como las enzimas metabólicas y las que regulan el ciclo de crecimiento, mitosis y división de las células (véase Cap. 18), duran sólo días, horas o, incluso, segundos. ¿Cómo controla la célula estos períodos de vida?

Las células tienen vías especializadas que degradan enzimáticamente a las proteínas en sus aminoácidos componentes (proceso denominado *proteólisis*). Las enzimas que degradan proteínas, primero a péptidos cortos y, por último, a aminoácidos individuales, se conocen colectivamente como **proteasas**. Las proteasas hidrolizan los enlaces peptídicos entre aminoácidos (véase lámina 2-5, pp. 72-73). Una función de la vía proteolítica es degradar con rapidez las proteínas cuyo período de vida debe ser breve. Otra función es reconocer y eliminar a las proteínas dañadas o mal plegadas. Esto es crucial para un organismo, ya que trastornos neurodegenerativos, como las enfermedades de Huntington, de Alzheimer y de Creutzfeldt-Jacob, son causadas por la agregación de proteínas mal plegadas. Estos agregados proteicos pueden dañar gravemente a las células y a los tejidos e, incluso, desencadenar la muerte celular.

Aunque la mayor parte de las proteínas dañadas son degradadas en el citosol, también hay importantes vías de degradación que operan en otros compartimientos de las células eucariontes, como los lisosomas (véase Cap. 15). En las células eucariontes, la mayor parte de las proteínas degradadas en el citosol son degradadas por maquinarias denominadas **proteasomas**. Un proteasoma contiene un cilindro central formado a partir de proteasas cuyos sitios activos enfrentan una cámara interna. Cada extremo del cilindro está obturado por un gran complejo proteico formado por no menos de 10 tipos diferentes de subunidades proteicas (Fig. 7-39). Se piensa que estos tapones proteicos se unen a las proteínas destinadas a la digestión y después –mediante hidrólisis del ATP que alimenta su actividad– entregan las moléculas condenadas a la cámara interna del cilindro; allí, las proteasas

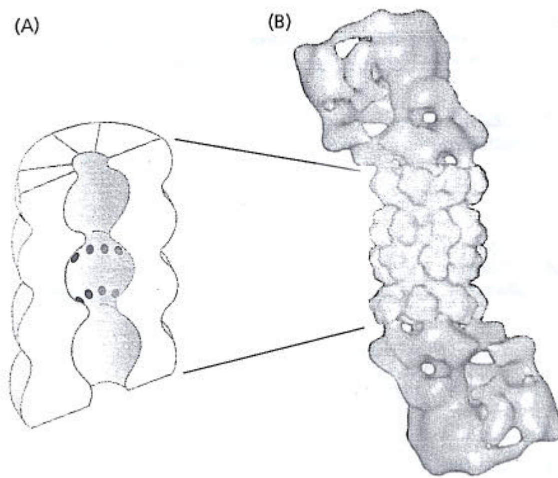


Figura 7-39. El proteasoma degrada las proteínas de vida corta y las mal plegadas. (A) Vista de un corte de la estructura del cilindro central de un proteasoma, determinada por cristalografía de rayos X, con los sitios activos de las proteasas indicados con *puntos rojos*. (B) Estructura de todo el proteasoma, en el que el cilindro central (*amarillo*) está cubierto por un tapón (*púrpura*) en cada extremo. (B, de W. Baumeister y col., *Cell* 92:367-380, 1998. Con autorización de Elsevier).

las fragmentan en péptidos cortos, que después son liberados desde el extremo del proteasoma. Alojar a las proteasas dentro de esta cámara molecular de destrucción es razonable, porque impide que circulen desenfrenadamente por toda la célula.

¿Cómo selecciona el proteasoma las proteínas que deben entrar en el cilindro y ser degradadas? Los proteasomas actúan fundamentalmente sobre las proteínas que han sido marcadas para su destrucción mediante la unión covalente de una proteína pequeña denominada *ubicuitina*. Enzimas especializadas marcan determinadas proteínas con una o más moléculas de ubicuitina; después, estas proteínas son reconocidas por el proteasoma y aspiradas hacia éste por proteínas del tapón.

Con frecuencia, las proteínas que están destinadas a una vida breve llevan una corta secuencia de aminoácidos que la identifica para ser ubicuitinizada y finalmente degradada por el proteosoma. Las proteínas desnaturalizadas o mal plegadas, así como las proteínas que contienen aminoácidos oxidados o con otras anormalidades, también son reconocidas y degradadas por este sistema proteolítico dependiente de ubicuitina. Las enzimas que agregan ubicuitina a estas proteínas reconocen señales que quedan expuestas en ellas como resultado del plegamiento inapropiado o del daño químico: p. ej., secuencias de aminoácidos o motivos conformacionales que normalmente están sepultados y son inaccesibles.

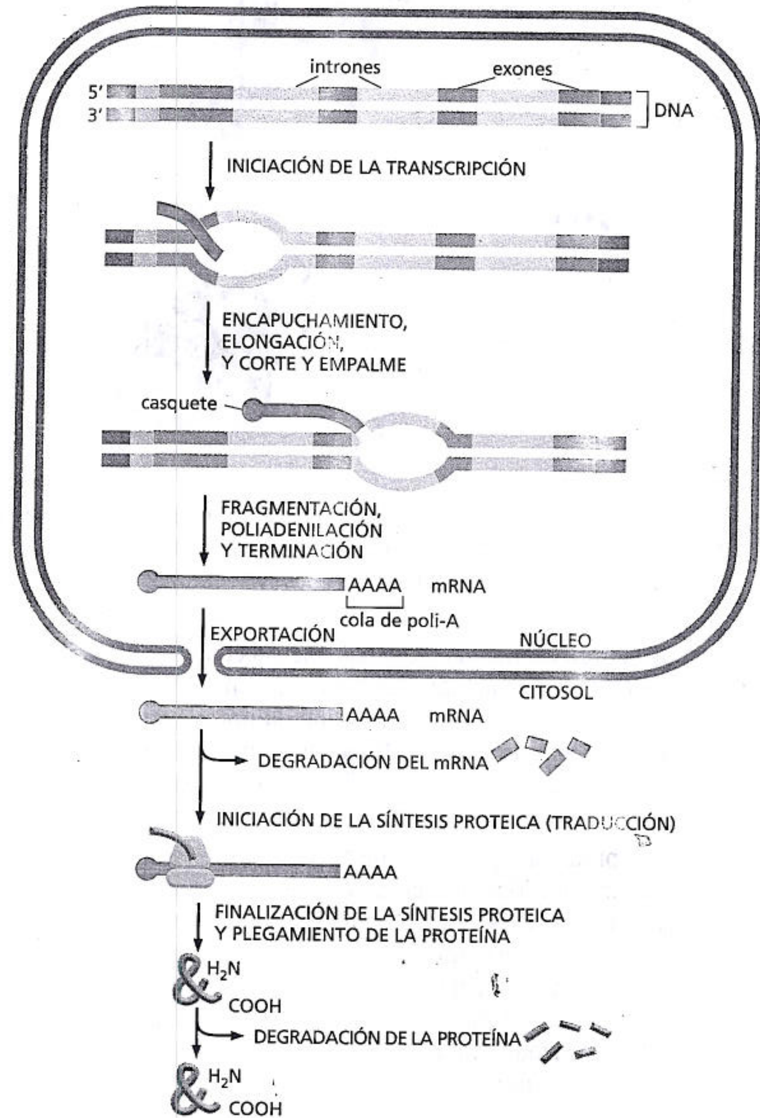
Hay muchos pasos entre el DNA y la proteína

Hasta ahora, se ha visto en este capítulo que se requieren muchos tipos diferentes de reacciones químicas para producir una proteína a partir de la información contenida en un gen (Fig. 7-40). Por lo tanto, la concentración final de una proteína en la célula depende de la eficiencia con la que se lleva a cabo cada uno de los pasos. Además, muchas proteínas –una vez que abandonan el ribosoma– requieren mayor atención porque son útiles para la célula. Por ejemplo, a menudo se necesita la modificación covalente (como fosforilación), la unión de cofactores que son moléculas pequeñas o la asociación con otras subunidades proteicas para activar una proteína recién sintetizada (Fig. 7-41).

En el siguiente capítulo, se verá que las células tienen la capacidad de modificar las concentraciones de la mayor parte de sus proteínas de acuerdo con sus necesidades. En principio, la célula puede regular todos los pasos de la figura 7-40. Sin embargo, como se comentará en el próximo capítulo, la iniciación de la transcripción es el punto más común en el que una célula regula la expresión de cada uno de sus genes.

La transcripción y la traducción son procesos universales que subyacen en el centro de la vida. Sin embargo, cuando los científicos llegaron a considerar cómo se podría haber originado el flujo de información del DNA a la proteína, llegaron a algunas conclusiones inesperadas.

Figura 7-40. La producción de proteínas en una célula eucarionte requiere muchos pasos. La concentración final de cada proteína de una célula eucarionte depende de la eficiencia de cada paso representado. Aún después de que una proteína ha sido traducida, su concentración puede ser regulada por degradación, y su actividad, por la unión de pequeñas moléculas y otras modificaciones postraducción (véase Fig. 7-41).



cadena polipeptídica naciente



PLEGAMIENTO Y UNIÓN DE COFACTORES (INTERACCIONES NO COVALENTES)



MODIFICACIÓN COVALENTE MEDIANTE, POR EJEMPLO, FOSFORILACIÓN



UNIÓN A OTRAS SUBUNIDADES PROTEICAS



proteína funcional madura

Figura 7.41. Muchas proteínas requieren modificación adicional para tornarse completamente funcionales. Para ser útiles a la célula, un polipéptido completo se debe plegar en forma correcta en su conformación tridimensional, unirse a los cofactores necesarios y ensamblarse con sus proteínas asociadas. La formación de enlaces no covalentes impulsa estos cambios. Muchas proteínas también requieren modificación covalente para volverse activas. Aunque la fosforilación y la glucosilación son las más comunes, se conocen más de 100 tipos diferentes de modificaciones covalentes de proteínas.

EL RNA Y LOS ORÍGENES DE LA VIDA

Para comprender por completo los procesos que se producen en las células de la actualidad, es preciso considerar cómo evolucionaron las células. Pero un proceso clave –el de la expresión génica– plantea una dificultad particular: si se requieren ácidos nucleicos para dirigir la síntesis proteica, y se requieren proteínas para sintetizar ácidos nucleicos, ¿cómo pudo haber surgido este sistema de componentes interdependientes? Un concepto es que, antes de que surgieran las células modernas (Fig. 7-42), existía en la Tierra un *mundo de RNA*. Según esta hipótesis, el

RNA –que hoy actúa como intermediario entre genes y proteínas– almacenaba información genética y catalizaba reacciones químicas en las células primitivas. Sólo en etapas evolutivas más tardías, el DNA se convirtió en el material genético, y las proteínas, en los principales catalizadores y componentes estructurales de las células. Si esta idea es correcta, la transición fuera del mundo del RNA nunca se completó; como se ha visto en este capítulo, el RNA todavía cataliza varias reacciones fundamentales en las células modernas. Estos RNA catalizadores, incluidos el ribosoma y la maquinaria de corte y empalme del RNA, pueden ser considerados, entonces, fósiles moleculares de un mundo previo.

La vida requiere autocatálisis

El origen de la vida requiere moléculas que tengan, aunque sólo sea en un pequeño grado, una propiedad crucial: la capacidad de catalizar reacciones que induzcan, directa o indirectamente, la producción de más moléculas iguales a sí mismas. Los catalizadores con esta propiedad especial de autopromoción, después de haberse originado por azar, se reproducirían a sí mismos y, por lo tanto, derivarían materia prima de la producción de otras sustancias. De esta manera, se puede imaginar el desarrollo gradual de un sistema químico cada vez más complejo de monómeros y polímeros orgánicos que funcionan juntos y generan más moléculas del mismo tipo, alimentados por el suministro de materias primas simples del ambiente. Un sistema *autocatalítico* de este tipo tendría muchas de las propiedades que consideramos como características de la materia viva: el sistema contendría una selección no aleatoria de moléculas que interactúan; tendería a reproducirse a sí mismo; debería competir con otros sistemas dependientes de la misma materia prima; y, de ser privado de su materia prima o mantenido a una temperatura que alterara el equilibrio de las velocidades de las reacciones, decaería hacia el equilibrio químico y 'moriría'.

Pero, ¿cuáles son las moléculas que podrían haber tenido estas propiedades autocatalíticas? En las células vivas actuales, los catalizadores más versátiles son proteínas, que pueden adoptar diversas formas tridimensionales erizadas de sitios químicamente reactivos. Sin embargo, no se conoce ningún modo por el cual una proteína se pueda reproducir a sí misma directamente. En cambio, los ácidos nucleicos pueden hacer estas dos cosas.

El RNA puede almacenar información y catalizar reacciones químicas

Se ha visto que el apareamiento de bases complementarias permite que un ácido nucleico actúe como un molde para la formación de otro. Por lo tanto, una sola cadena de RNA o de DNA puede especificar la secuencia de un polinucleótido complementario, que, a su vez, puede especificar la secuencia de la molécula original, lo cual permite que sea replicado el ácido nucleico original (**Fig. 7-43**). Estos mecanismos de moldes complementarios son la base de la replicación y transcripción del DNA en las células actuales.

Sin embargo, la síntesis eficiente de polinucleótidos por estos mecanismos de moldes complementarios también requiere catalizadores para promover la reacción de polimerización: sin catálisis, la formación de polímeros es lenta, proclive al error

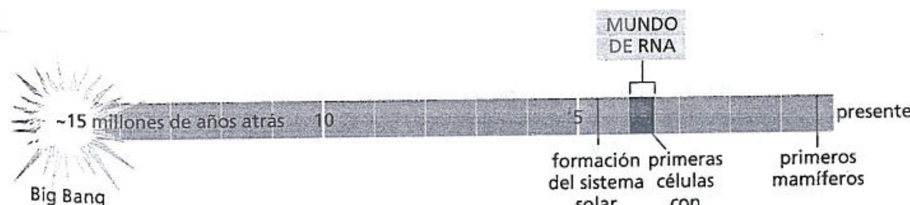


Figura 7-42. Podría haber existido un mundo de RNA antes de que aparecieran las células modernas.

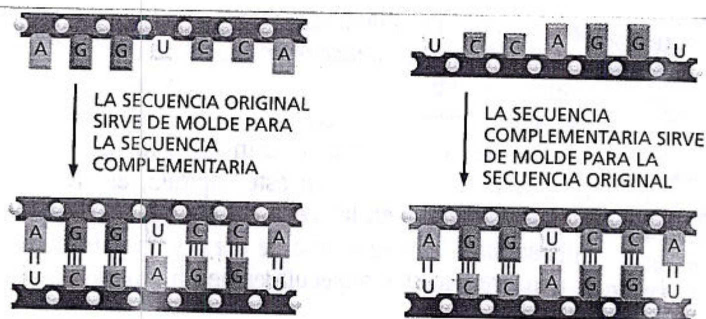


Figura 7-43. Una molécula de RNA puede, en principio, guiar la formación de una copia exacta de sí misma. En el primer paso, la molécula de RNA original actúa como un molde para formar una molécula de RNA de secuencia complementaria. En el segundo paso, esta molécula de RNA complementario actúa por sí mismo como molde y forma moléculas de RNA de la secuencia original. Como cada molécula molde puede producir muchas copias de la cadena complementaria, estas reacciones pueden generar la "multiplicación" de la secuencia original.

e ineficiente. En la actualidad, la polimerización de nucleótidos es catalizada con rapidez por enzimas proteicas, como las DNA y RNA polimerasas. Pero ¿cómo podría haber sido catalizada esta reacción antes que existieran las proteínas con la capacidad catalítica apropiada? El principio de una respuesta a esta pregunta se obtuvo en 1982, cuando se descubrió que las propias moléculas de RNA podían actuar como catalizadores. Ya se comentó en este capítulo, por ejemplo, que una molécula de RNA cataliza la reacción de peptidil transferasa que tiene lugar en el ribosoma. Se piensa que el potencial singular de las moléculas de RNA para actuar como transportadoras de información y catalizadoras les ha permitido desempeñar un papel central en el origen de la vida.

En las células actuales, el RNA es sintetizado como una molécula monocatenaria, y se ha visto que puede haber apareamiento de bases complementarias entre nucleótidos en la misma cadena (véase Fig. 7-5). Este apareamiento de bases, junto con enlaces de hidrógeno "no convencionales", puede determinar que cada molécula de RNA se pliegue de una manera única determinada por su secuencia de nucleótidos. Estas asociaciones producen patrones de plegamiento tridimensionales complejos, donde la molécula como un todo adopta una forma singular.

Como se mencionó en el capítulo 4, las enzimas proteicas pueden catalizar una reacción bioquímica porque tienen superficies con contornos y propiedades químicas singulares sobre las que puede reaccionar un determinado sustrato. Del mismo modo, las moléculas de RNA, con sus formas plegadas particulares, pueden servir como enzimas (Fig. 7-44), aunque el hecho de que estén formadas sólo por cuatro subunidades diferentes limita su eficiencia catalítica y su espectro de reacciones químicas en comparación con las proteínas. No obstante, las ribozimas pueden catalizar muchos tipos de reacciones químicas. La mayoría de las ribozimas estudiadas fueron creadas en el laboratorio (cuadro 7-4); en las células actuales, hay relativamente pocos RNA catalíticos. Pero los procesos en los que los RNA catalíticos todavía parecen desempeñar papeles fundamentales son algunos de los pasos más fundamentales de la expresión de la información genética, en especial aquellos donde las propias moléculas de RNA son cortadas y empalmadas o traducidas a proteínas.

Por lo tanto, el RNA tiene todas las propiedades requeridas de una molécula capaz de catalizar su propia síntesis (Fig. 7-45). Si bien no se han hallado en la naturaleza sistemas autorreplicativos de moléculas de RNA, los científicos parecen estar en vías de sintetizarlos en el laboratorio. Aunque esta demostración no probaría que las moléculas de RNA autorreplicativas fueron esenciales en el origen de la vida sobre la Tierra, indicaría que ese escenario es posible.

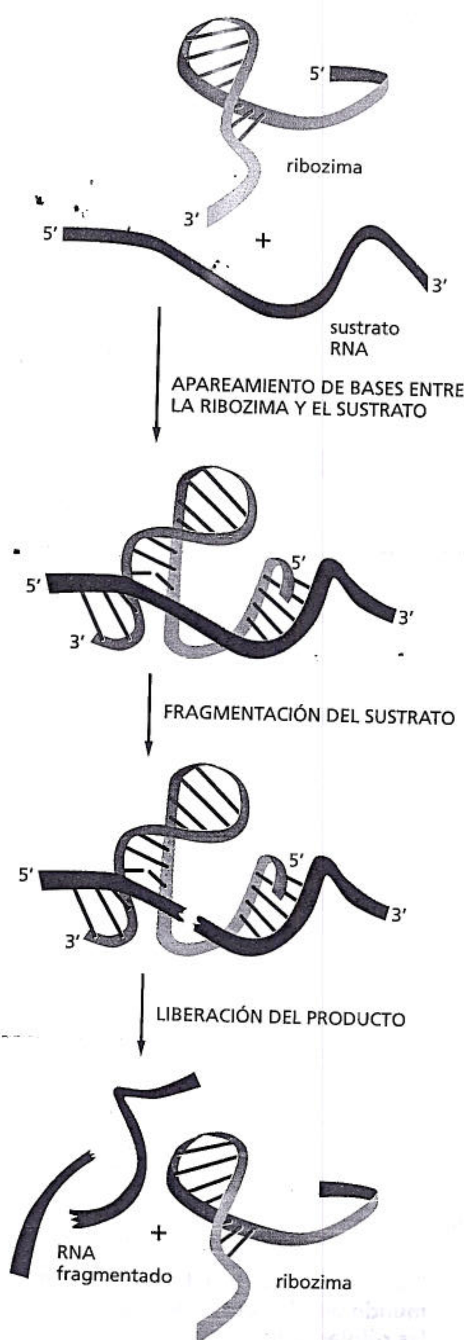


Figura 7-44. Una ribozima es una molécula de RNA que tiene actividad catalítica. La molécula de RNA simple mostrada cataliza la fragmentación de un segundo RNA en un sitio específico. Esta ribozima se encuentra incluida en genomas de RNA más grandes denominados viroides que infectan a las plantas. La fragmentación, que se produce en la naturaleza en una localización distante de la misma molécula de RNA que contiene la ribozima, es un paso de la replicación del genoma de RNA. Esta reacción también requiere un ión magnesio (no mostrado), que es llevado cerca del sitio de escisión en el sustrato. (Adaptado de T.R. Cech y O.C. Uhlenbeck, *Nature* 372:39-40, 1994. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

CUADRO 7-4 REACCIONES BIOQUÍMICAS QUE PUEDEN SER CATALIZADAS POR RIBOZIMAS

ACTIVIDAD	RIBOZIMAS
Fragmentación del RNA, ligamiento del RNA	RNA autocatalíticos
Fragmentación del DNA	RNA autocatalíticos
Formación de enlace peptídico en la síntesis proteica	RNA ribosómico
Ligamiento del DNA	RNA seleccionado *in vitro*
Corte y empalme del RNA	RNA autocatalíticos, RNA de los empalmosomas (?)
Polimerización del RNA	RNA seleccionado *in vitro*
Fosforilación del RNA	RNA seleccionado *in vitro*
Aminoacilación del RNA	RNA seleccionado *in vitro*
Alquilación del RNA	RNA seleccionado *in vitro*
Rotación de enlaces C–C (isomerización)	RNA seleccionado *in vitro*

Se considera que el RNA precedió al DNA en la evolución

Presumiblemente, las primeras células de la Tierra han sido mucho menos complejas y menos eficientes para reproducirse a sí mismas que las células aun más simples de la actualidad. Deben haber consistido en poco más que una simple membrana que rodeaba un grupo de moléculas autorreplicativas y pocos otros componentes requeridos para proporcionar los materiales y la energía para su replicación. Si las especulaciones evolutivas acerca del RNA reseñadas antes son correctas, otra diferencia entre estas células iniciales y las células que se conocen en la actualidad debe haber sido que almacenaban su información hereditaria en el RNA y no en el DNA.

La evidencia de que el RNA se originó antes que el DNA en la evolución se puede hallar en las diferencias químicas entre ambos. La ribosa (véase Fig. 7-3A), al igual que la glucosa y otros hidratos de carbono simples, se forma con facilidad a partir del formaldehído (HCHO), que es uno de los principales productos de los experimentos que simulan las condiciones en la Tierra primitiva. El azúcar desoxirribosa es más difícil de producir, y en las células actuales, se forma a partir de la ribosa mediante una reacción catalizada por una enzima proteica, lo que indica que la ribosa precedió a la desoxirribosa en las células. Es probable que el DNA haya aparecido en escena más adelante y luego probó ser más apropiado que el RNA como depósito permanente de información genética. En particular, la desoxirribosa de su esqueleto azúcar-fosfato forma cadenas de DNA químicamente mucho más estables que las de RNA, de modo que se pueden mantener mayores longitudes de DNA sin rupturas.

Las otras diferencias entre el RNA y el DNA –la estructura en doble hélice del DNA y la presencia de timina en lugar de uracilo– aumentan aun más la estabilidad del DNA al hacer que la molécula sea más fácil de reparar. En el capítulo 6, se comentó que un nucleótido dañado de una cadena de la doble hélice puede ser reparado utilizando la otra cadena como molde. Además, la desaminación, uno de los

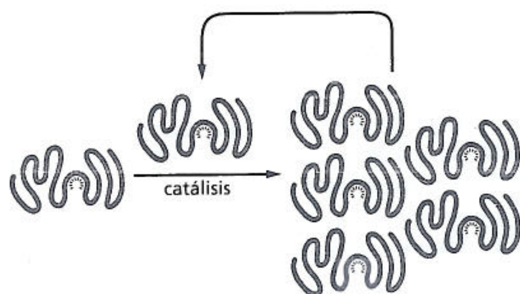


Figura 7-45. ¿Una molécula de RNA podría catalizar su propia síntesis? Este proceso hipotético requeriría la catálisis de los dos pasos mostrados en la figura 7-43. Los *rayos rojos* representan los sitios activos de esta enzima de RNA.

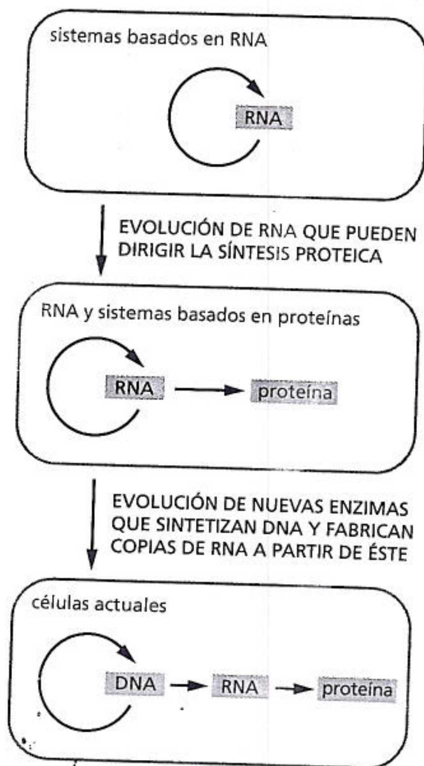


Figura 7-46. El RNA puede haber precedido al DNA y a las proteínas en la evolución. De acuerdo con esta idea, las moléculas de RNA cumplían funciones genéticas, estructurales y catalíticas en las primeras células. Ahora, el DNA es el depósito de la información genética, y las proteínas realizan casi todas las funciones catalíticas en las células. En la actualidad, el RNA funciona principalmente como un intermediario en la síntesis de proteínas, mientras que conserva la función catalítica para unas pocas reacciones cruciales.

cambios químicos no deseados más comunes que presentan los polinucleótidos es mucho más fácil de detectar y reparar en el DNA que en el RNA (véase Fig. 6-23). Esto se debe a que el producto de la desaminación de la citosina es, casualmente el uracilo, que ya existe en el RNA, de modo que ese cambio sería imposible de detectar por enzimas de reparación en una molécula de RNA. En cambio, el DNA tiene timina en lugar de uracilo, y cualquier uracilo producido por la desaminación accidental de la citosina será detectado y reparado con facilidad.

En conjunto, la evidencia analizada apunta a la idea del RNA, que tiene propiedades tanto genéticas como catalíticas, precedió al DNA en la evolución. Se considera que, a medida que aparecieron células que se asemejaban más estrechamente a las células actuales, muchas de las funciones originales llevadas a cabo por el RNA fueron asumidas por moléculas adecuadas más específicamente a las tareas requeridas. Por último, el DNA se hizo cargo de la función genética primaria, y las proteínas se convirtieron en los principales catalizadores, mientras que el RNA se mantuvo principalmente como el intermediario entre ambos (Fig. 7-46). Con el advenimiento del DNA, las células pudieron aumentar su complejidad, ya que podían transportar y transmitir más información genética de la que podía ser mantenida de manera estable en una molécula de RNA. Gracias a la mayor complejidad bioquímica de las proteínas y a la variedad de reacciones químicas que catalizan, el cambio (aunque incompleto) de RNA a proteínas también proporcionó una fuente mucho más rica de componentes estructurales y de enzimas. Esto les permitió a las células desarrollar la gran diversidad estructural y funcional que se observa en la vida actual.

CONCEPTOS ESENCIALES

- El flujo de la información genética en todas las células vivas es DNA → RNA → proteína. La conversión de las instrucciones genéticas de DNA a RNA y proteínas se denomina expresión génica.
- Para expresar la información genética transportada en el DNA, la secuencia de nucleótidos de un gen primero es transcripta a RNA. La transcripción es catalizada por la enzima RNA polimerasa. Las secuencias de nucleótidos de la molécula de DNA le indican a la RNA polimerasa dónde comenzar y dónde terminar la transcripción.
- El RNA difiere del DNA en varios aspectos. Contiene el azúcar ribosa en lugar de desoxirribosa y la base uracilo (U) en lugar de timina (T). En las células, los RNA son sintetizados como moléculas monocatenarias, que a menudo se pliegan en formas tridimensionales precisas.
- Las células producen varios tipos funcionales diferentes de RNA, como RNA mensajero (mRNA), que transporta las instrucciones para sintetizar proteínas; RNA ribosómico (rRNA), que es un componente de los ribosomas; y RNA de transferencia (tRNA), que actúa como una molécula adaptadora en la síntesis proteica.
- La transcripción comienza en sitios del DNA denominados promotores. Para iniciar la transcripción, las RNA polimerasas eucariontes requieren el ensamblaje de un complejo de factores de transcripción general en el promotor, mientras que la RNA polimerasa bacteriana sólo necesita una subunidad adicional, denominada factor sigma.
- En el DNA eucarionte, la mayor parte de los genes están compuestos por una serie de regiones codificadoras más pequeñas (exones) intercaladas con regiones no codificadoras (intrones). Cuando un gen eucarionte es transcripto de DNA a RNA, se copian tanto los exones como los intrones.
- Los intrones son eliminados de los transcriptos de RNA en el núcleo por el proceso de corte y empalme del RNA. En una reacción catalizada por pequeños complejos ribonucleoproteicos, denominados snRNP, se escinden los intrones del RNA y se unen los exones entre sí.
- Los mRNA eucariontes pasan por varios pasos de procesamiento adicionales antes de abandonar el núcleo, como el encapuchamiento y la poliadenilación del

PREGUNTA 7-6

Analice lo siguiente: "Durante la evolución de la vida sobre la Tierra, el RNA perdió su posición gloriosa de primer catalizador autorreplicativo. Ahora, su papel es el de un simple mensajero en el flujo de información del DNA a la proteína".

RNA. Estas reacciones, junto con el corte y empalme, tienen lugar a medida que se transcribe el RNA. Después, el mRNA maduro es transportado al citoplasma.

- La traducción de la secuencia nucleotídica del mRNA a proteínas tiene lugar en el citoplasma sobre grandes ensamblajes de ribonucleoproteínas, denominados ribosomas. A medida que un mRNA es enhebrado a través de un ribosoma, su mensaje es traducido a proteína.
- La secuencia de nucleótidos del mRNA se lee en grupos de tres nucleótidos (codones), y cada codón corresponde a un aminoácido.
- La correspondencia entre aminoácidos y codones es especificada por el código genético. Las combinaciones posibles de 4 nucleótidos diferentes en el RNA dan origen a 64 codones diferentes en el código genético. La mayor parte de los aminoácidos es especificada por más de un codón.
- El tRNA actúa como una molécula adaptadora en la síntesis de proteínas. Las enzimas denominadas aminoacil-tRNA sintetasas unen aminoácidos a sus tRNA apropiados. Cada tRNA contiene una secuencia de tres nucleótidos, el anticodón, que se une a un codón del mRNA por apareamiento de bases complementarias entre el codón y el anticodón.
- La síntesis proteica comienza cuando un ribosoma se ensambla en el codón de iniciación (AUG) del mRNA, proceso que está regulado por proteínas denominadas factores de iniciación de la traducción. La cadena proteica terminada es liberada del ribosoma cuando se alcanza un codón de terminación (UAA, UAG o UGA).
- La unión escalonada de aminoácidos a una cadena polipeptídica es catalizada por una molécula de rRNA de la subunidad ribosómica grande. Por lo tanto, el ribosoma es un ejemplo de ribozima, una molécula de RNA que puede catalizar una reacción química.
- En la célula, la degradación de proteínas está cuidadosamente controlada. Algunas proteínas son degradadas en el citosol por grandes complejos proteicos denominados proteasomas.
- A partir del conocimiento de los organismos actuales y de las moléculas que contienen, parece probable que los sistemas vivos comenzaron con la evolución de las moléculas de RNA que podían catalizar su propia replicación.
- Se ha propuesto que, a medida que evolucionaron las células, la doble hélice de DNA reemplazó al RNA como una molécula más estable para almacenar información genética, y que las proteínas remplazaron a los RNA como los principales componentes catalíticos y estructurales. Sin embargo, reacciones importantes, como la formación de enlaces peptídicos, todavía son catalizadas por RNA; se piensa que éstas permiten vislumbrar un mundo ancestral basado en RNA.

PALABRAS CLAVE

aminoacil-tRNA sintetasa	promotor
anticodón	proteasa
código genético	proteasoma
codón	ribosoma
corte y empalme alternativo	ribozima
corte y empalme del RNA	RNA
empalmosoma (ayustosoma)	RNA de transferencia (tRNA)
exón	RNA mensajero (mRNA)
expresión génica	RNA nuclear pequeño (snRNA)
factor de iniciación de la traducción	RNA polimerasa
factores de transcripción general	RNA ribosómico (rRNA)
intrón	traducción
marco de lectura	transcripción
procesamiento del RNA	tRNA iniciador

PREGUNTAS

PREGUNTA 7-7

¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta? Explique sus respuestas.

A. Cada ribosoma puede producir sólo un tipo de proteína.

B. Todos los mRNA se pliegan en estructuras tridimensionales particulares que son requeridas para su traducción.

C. Las subunidades grande y pequeña de un ribosoma siempre se mantienen juntas y nunca intercambian partes.

D. Los ribosomas son orgánulos citoplasmáticos que están encapsulados por una sola membrana.

E. Como las dos cadenas de DNA son complementarias, el mRNA de determinado gen se puede sintetizar utilizando cualquiera de las cadenas como molde.

F. Un mRNA puede contener la secuencia ATTGACCCCGGTCAA.

G. La cantidad de proteína presente en la célula en un estado estable depende de su velocidad de síntesis, su actividad catalítica y su velocidad de degradación.

PREGUNTA 7-8

La proteína de Lacheinmal es una proteína hipotética que hace que las personas sonrían con más frecuencia. Es inactiva en muchos seres humanos crónicamente infelices. Se halló que el mRNA aislado a partir de cierto número de personas infelices de la misma familia carecía de un tramo interno de 173 nucleótidos que está presente en el mRNA de Lacheinmal aislado de un grupo control de personas felices. Se determinaron y compararon las secuencias del DNA de los genes de Lacheinmal de las familias felices e infelices. Diferían sólo en la sustitución de un nucleótido, localizado en un intrón. ¿Qué puede decir sobre las bases moleculares de la infelicidad en esta familia?
(Indicios: [1] ¿Puede postular un mecanismo molecular por el cual la sustitución de un solo nucleótido de un gen podría causar la deleción observada en el mRNA? Observe que la deleción es *interna*. [2] Asumiendo que la deleción de 173 pares de bases elimina secuencias codificadoras del mRNA de Lacheinmal, ¿cómo podría diferir la proteína de Lacheinmal entre las personas felices e infelices?)

PREGUNTA 7-9

Utilice el código mostrado en la figura 7-21 para identificar cuál de las siguientes secuencias de nucleótidos codificaría la secuencia polipeptídica arginina-glicina-aspartato:

1. 5'-AGA-GGA-GAU-3'
2. 5'-ACA-CCC-ACU-3'
3. 5'-GGG-AAA-UUU-3'
4. 5'-CGG-GGU-GAC-3'

PREGUNTA 7-10

"Los enlaces que se forman entre el anticodón de una molécula de tRNA y los tres nucleótidos de un codón en un mRNA son ______". Complete esta oración con cada una de las siguientes opciones y explique por qué la afirmación resultante es correcta o incorrecta.

A. Enlaces covalentes formados por la hidrólisis de GTP.

B. Enlaces de hidrógeno que se forman cuando el tRNA está en el sitio A.

C. Rotos por translocación del ribosoma a lo largo del mRNA.

PREGUNTA 7-11

Enumere las definiciones habituales del diccionario de los términos replicación, transcripción y traducción. Por otra parte, enumere el significado especial de cada término cuando se aplica a la célula viva.

PREGUNTA 7-12

En un mundo extraterrestre, el código genético es escrito en pares de nucleótidos. ¿Cuántos aminoácidos puede especificar este código? En un mundo diferente se utiliza un código triple, pero la secuencia de nucleótidos no es importante. Sólo importa qué nucleótidos están presentes. ¿Cuántos aminoácidos podría especificar este código? ¿Esperaría encontrar problemas en la traducción de estos códigos?

PREGUNTA 7-13

Una característica destacable del código genético es que los aminoácidos con propiedades químicas parecidas suelen tener codones similares. Así, los codones con U o C como segundo nucleótido tienden a especificar aminoácidos hidrófobos. ¿Puede sugerir una explicación posible para este fenómeno en términos de la evolución temprana de la maquinaria de síntesis proteica?

PREGUNTA 7-14

Una mutación en el DNA genera un codón de terminación UGA en el medio del RNA que codifica una determinada proteína. Una segunda mutación en la célula induce el cambio de un solo nucleótido en un tRNA que permite la traducción correcta de la proteína; es decir, la segunda mutación "suprime" el defecto causado por la primera. El tRNA alterado traduce el UGA como triptófano. ¿Qué cambio de nucleótido ha ocurrido probablemente en la molécula de tRNA mutante? ¿Qué consecuencias tendría la presencia de un tRNA mutante de este tipo para la traducción de los genes normales de esta célula?

PREGUNTA 7-15

La carga de un tRNA con un aminoácido puede ser representada por la siguiente ecuación: aminoácido + tRNA + ATP → aminoacil-tRNA + AMP + PP_i donde PP_i es pirofosfato (véase Fig. 3-40). En el aminoacil-tRNA, el aminoácido y el tRNA están unidos por un enlace de alta energía; así, gran parte de la energía derivada de la hidrólisis del ATP es almacenada en este enlace y está disponible para impulsar la formación de enlaces peptídicos en etapas posteriores de la síntesis proteica. El cambio de energía libre de la reacción de carga mostrada en la ecuación se aproxima a cero y, por lo tanto, no sería esperable que favoreciera la unión del aminoácido al tRNA. ¿Puede sugerir un paso adicional que podría impulsar que se complete la reacción?

PREGUNTA 7-16

A. El peso molecular promedio de las proteínas de la célula es de alrededor de 30.000 dalton. Sin embargo, unas pocas

proteínas son mucho más grandes. La cadena polipeptídica de mayor tamaño producida por cualquier célula es una proteína denominada titina (sintetizada por las células musculares) de los mamíferos), que tiene un peso molecular de 3.000.000 de dalton. Estime cuánto tiempo le tomará a la célula muscular traducir un mRNA que codifica titina (asuma un peso molecular promedio de un aminoácido de 120 y una velocidad de traducción de dos aminoácidos por segundo para las células eucariontes).

B. La síntesis proteica es muy precisa: cada 10.000 aminoácidos unidos entre sí, sólo se produce un error. ¿Cuál es la fracción de moléculas proteicas de tamaño promedio y de moléculas de titina que son sintetizadas sin ningún error? (Indicio: la probabilidad P de obtener una proteína sin errores está dada por $P = (1 - E)^n$, donde E es la frecuencia de error y n el número de aminoácidos.)

C. El peso molecular aproximado de todas las proteínas ribosómicas eucariontes combinadas es de $2{,}5 \times 10^6$ dalton. ¿Podría ser ventajoso sintetizarlas como una sola proteína?

D. La transcripción se produce a una velocidad aproximada de 30 nucleótidos por segundo. ¿Es posible calcular el tiempo requerido para sintetizar un mRNA de titina a partir de la información aquí suministrada?

PREGUNTA 7-17

¿Cuál de las siguientes mutaciones dañaría a un organismo? Fundamente sus respuestas.

A. Inserción de un solo nucleótido cerca del final de la secuencia codificadora.

B. Eliminación de un solo nucleótido cerca del comienzo de la secuencia codificadora.

C. Supresión de tres nucleótidos consecutivos en el medio de la secuencia codificadora.

D. Supresión de cuatro nucleótidos consecutivos en el medio de la secuencia codificadora.

E. Sustitución de un nucleótido por otro en el medio de la secuencia codificadora.

D
secu
en u
En b
fuen
celul
razó
lidad
Cient
pio,
que
mien
hemo



CAPÍTULO **OCHO** 8

Control de la expresión génica

El DNA de un organismo codifica todas las moléculas de RNA y proteínas necesarias para producir sus células. Sin embargo, la descripción completa de la secuencia del DNA de un organismo –ya sea de unos pocos millones de nucleótidos, de una bacteria o de varios miles de millones, como en cada célula humana– no tornará posible reconstruir a un organismo más de lo que una lista de palabras en un diccionario inglés permite reconstruir una obra de Shakespeare. Se necesita saber cómo los elementos en la secuencia de DNA o las palabras en una lista de trabajo funcionan en conjunto.

En biología celular, la cuestión se origina en la **expresión génica**. Incluso la bacteria unicelular más simple puede utilizar sus genes en forma selectiva, activándolos e inhibiéndolos de modo que pueda producir diferentes enzimas según las fuentes de nutrientes disponibles. Y, en las plantas y animales multicelulares la expresión génica está incluso bajo un control más elaborado. En el curso del desarrollo embrionario un gameto femenino fecundado da origen a muchos tipos celulares que difieren profundamente en su estructura y función. Las diferencias entre una neurona y un linfocito de mamífero, por ejemplo, son tan extremas que es difícil imaginar que las dos células contienen el mismo DNA (Fig. 8-1). Por esta razón, y debido a que las células en un organismo adulto raramente pierden sus características distintivas, los biólogos sospechaban que los genes podían ser perdidos selectivamente cuando una célula se especializa. Sin embargo, en la actualidad se sabe que casi todas las células de un organismo multicelular contienen el mismo genoma. La *diferenciación* celular se logra a su vez por cambios en la expresión génica.

Cientos de tipos celulares diferentes realizan una gama de funciones especializadas que dependen de genes que sólo son activados en este tipo celular: por ejemplo, las células α del páncreas producen la hormona proteica insulina, mientras que las células β del páncreas elaboran la hormona glucagón; los linfocitos del sistema inmunitario son las únicas células del organismo que generan anticuerpos, mientras que los glóbulos rojos en desarrollo son las únicas células que producen hemoglobina, la proteína transportadora de oxígeno. Las diferencias entre una

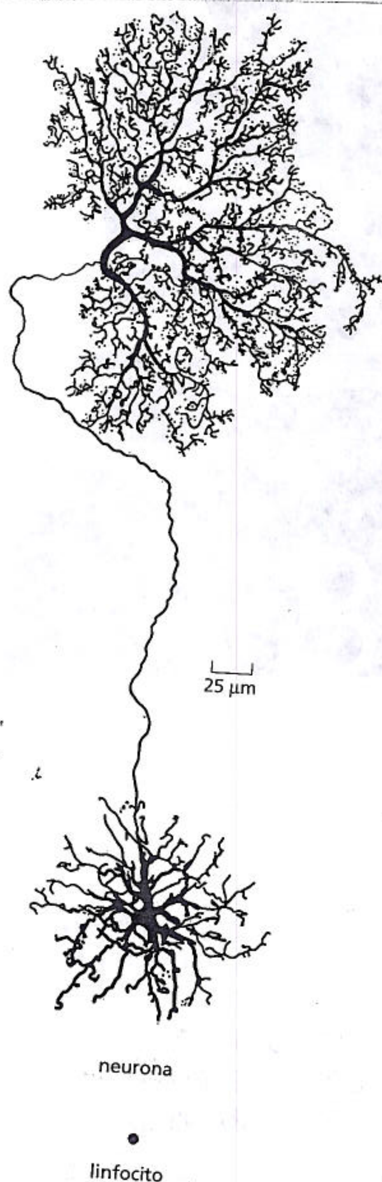


Figura 8-1. Una neurona y un linfocito comparten el mismo genoma. Las ramificaciones largas de esta neurona de la retina la capacitan para recibir señales eléctricas de muchas células y llevarlas a muchas células vecinas. El linfocito, un glóbulo blanco involucrado en la respuesta inmunitaria a la infección (dibujado a escala), se mueve libremente a través del cuerpo. Ambas células de mamífero contienen el mismo genoma, pero expresan diferentes RNA y proteínas. (*Neuron de B.B. Boycott in Essays on the Nervous System* [R. Bellaris y E.G. Gray, eds.]. Oxford, U.K.: Clarendon Press, 1974. Con autorización de Oxford University Press).

neurona, un linfocito, una célula del páncreas y un eritrocito dependen de un control preciso de la expresión génica. En cada caso la célula utiliza solamente algunos de los genes de su repertorio total.

En este capítulo la descripción se centrará en la forma principal en la que se controla la expresión génica en las células bacterianas y eucariontes. Aunque algunos mecanismos de control se aplican a ambos tipos de células, las células eucariontes, con su estructura cromosómica más compleja, tienen modos de control de la expresión génica que no existen en las bacterias.

PANORAMA GENERAL DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

¿Cómo hace una célula para especificar cuál de sus miles de genes debe expresar? Decidir qué genes serán expresados es un problema importante, en especial para los organismos multicelulares, ya que a medida que el animal se desarrolla, los tipos celulares como las células musculares, nerviosas y sanguíneas se diferencian entre sí, y conducen a la amplia variedad que se observa en el adulto. Esta diferenciación surge porque las células producen y acumulan diferentes grupos de moléculas de RNA y proteínas; es decir, expresan genes diferentes.

Los diferentes tipos celulares de un organismo multicelular contienen el mismo DNA

Como se mencionó antes, las células tienen la capacidad de cambiar los genes que expresa sin alterar la secuencia nucleotídica de su DNA. Pero, ¿cómo se sabe esto? Si el DNA se alterase en forma irreversible durante el desarrollo, los cromosomas de una célula diferenciada serían incapaces de guiar el desarrollo de todo un organismo. Para probar esta idea, se inyectó un núcleo de una célula de la piel de la rana adulta en un óvulo de rana cuyo propio núcleo había sido eliminado. Al menos, en algunos casos el cigoto se desarrollaba normalmente, lo cual indicaba que el núcleo de la célula trasplantada no había perdido ninguna secuencia de DNA crítica (Fig. 8-2). Estos experimentos de trasplantes nucleares también se realizaron con éxito utilizando células diferenciadas de mamíferos adultos, como ovejas, cerdos, cabras y ratones. En las plantas, por ejemplo, células obtenidas de zanahoria pudieron regenerar una planta adulta entera. Estos experimentos demuestran que todo el DNA en las células especializadas contiene el conjunto completo de instrucciones necesarias para formar un organismo entero. Las células de un organismo, por lo tanto, difieren no porque contienen diferentes genes, sino porque los expresan de manera diferencial.

Diferentes tipos celulares producen distintos grupos de proteínas

El alcance de las diferencias en la expresión génica entre los diferentes tipos celulares se puede medir aproximadamente comparando la composición proteica de las células en el hígado, el corazón, el cerebro y así sucesivamente, mediante la técnica de la electroforesis en gel bidimensional (véase Lámina 4-6, p. 167). Experimentos de este tipo revelan que muchas proteínas son comunes a todas las células de un organismo multicelular. Estas proteínas *constitutivas* comprenden las proteínas estructurales de los cromosomas, las RNA polimerasas, las enzimas de reparación del DNA, las proteínas ribosómicas, las enzimas involucradas en la glucólisis y otros procesos metabólicos básicos y muchas de las proteínas que forman el citoesqueleto. Cada tipo celular diferente genera también proteínas especializadas que son responsables de las propiedades celulares características. En los mamíferos, por ejemplo, la hemoglobina se produce en los reticulocitos, células que dan lugar a los glóbulos rojos, pero no puede detectarse en cualquier otro tipo celular.

Muchas de las proteínas en una célula se producen en cantidades tan pequeñas que no pueden detectarse por la electroforesis en gel. Se puede utilizar una técni-

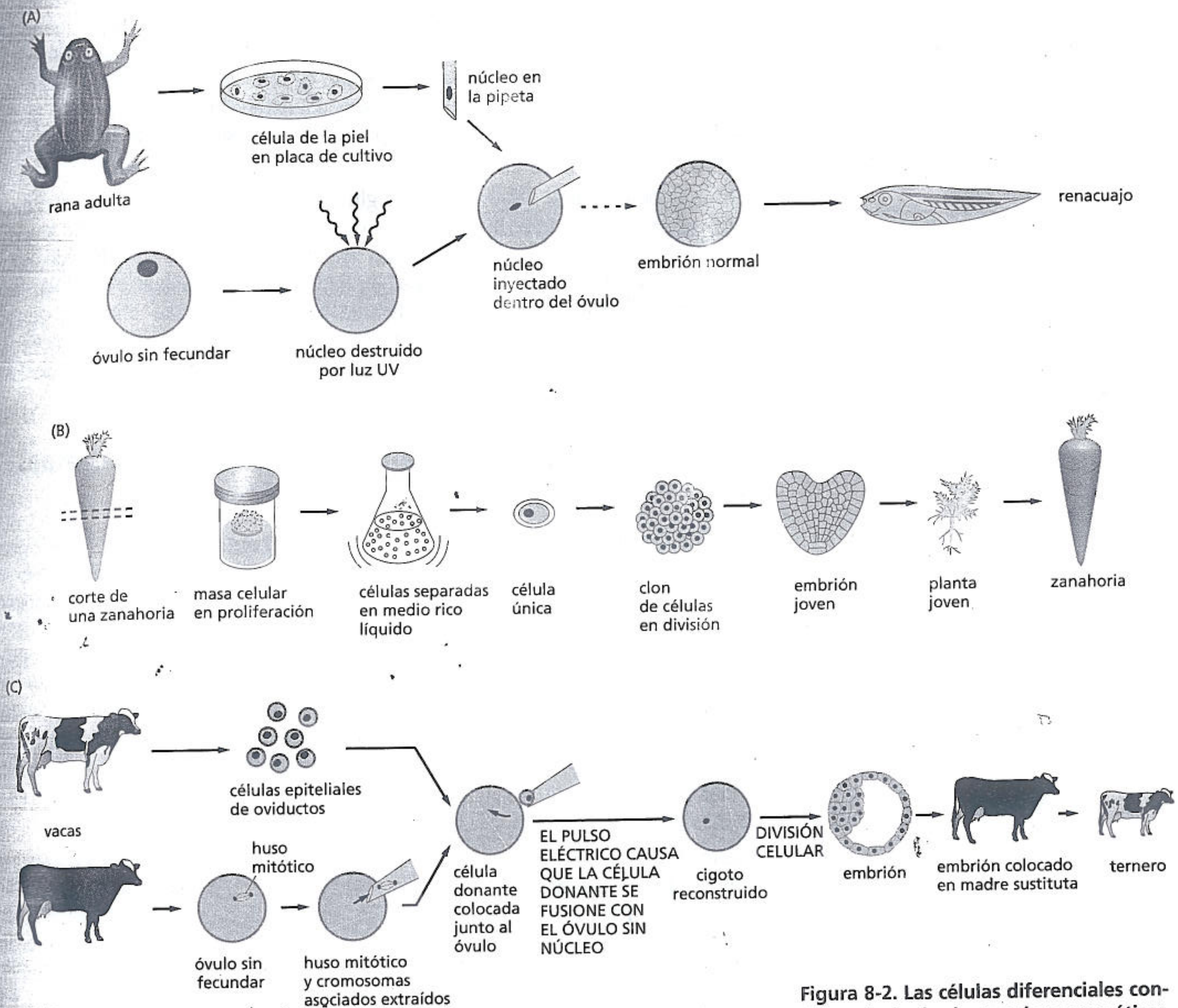


Figura 8-2. Las células diferenciales contienen todas las instrucciones genéticas necesarias para dirigir la formación de un organismo completo. (A) El núcleo de una célula de la piel de una rana adulta transplantado a un óvulo cuyo núcleo fue extraído puede dar origen a un renacuajo completo. La flecha incompleta indica dar al genoma transplantado tiempo para ajustarse al ambiente embrionario, se necesita un posterior paso de transferencia donde se toma uno de los núcleos del embrión temprano que comienza a desarrollarse y se lo regresa a un segundo óvulo sin núcleo. (B) En muchos tipos de plantas, las células diferenciadas retienen la capacidad de "diferenciarse", de manera que más adelante darán origen a una planta entera. (C) Una célula diferenciada de una vaca adulta introducida dentro de un óvulo sin núcleo de una vaca diferente puede dar origen a un ternero. Diferentes terneros producidos a partir de la misma células diferenciada donante son genéticamente idénticos y, por lo tanto, son clones unos de otros. (A, modificado a partir de J.B. Gurdon, Sci. Am. 219(6):24–35, 1968. Con autorización de Estate of Bunji Tagawa).

ca más sensible, denominada espectrometría de masa (véase Fig. 4-45) incluso para detectar proteínas raras, y también puede proporcionar información acerca de si las proteínas son modificadas covalentemente (por ejemplo fosforilación). La expresión génica también puede estudiarse monitorizando los mRNA que codifican proteínas, en lugar de las proteínas mismas. La estimación del número de diferentes secuencias de mRNA en las células humanas sugiere que, en un momento dado, una célula diferenciada típica expresa quizás 5.000-15.000 genes a partir de un repertorio cercano a 25.000. Es la expresión de un grupo diferente de genes en cada tipo celular lo que causa las grandes variaciones de tamaño, forma, comportamiento y función de las células diferenciadas.

Una célula puede cambiar la expresión de sus genes en respuesta a las señales externas

La mayoría de las células especializadas en los organismos multicelulares son capaces de alterar sus patrones de expresión génica en respuesta a señales extracelulares. Si se expone un hepatocito a una hormona glucocorticoidea (un tipo de esteroide), por ejemplo, se incrementa considerablemente la producción de diver-

sas proteínas específicas. Los glucocorticoides se liberan en el organismo durante los períodos de inanición o de ejercicio intenso y le indican al hígado que incremente la producción de glucosa a partir de aminoácidos y otras moléculas pequeñas. El grupo de proteínas cuya producción es inducida incluye a enzimas como la tirosinaminotransferasa, que ayuda a convertir la tirosina en glucosa. Cuando la hormona no está más presente, la producción de estas proteínas cae a su nivel normal.

Otros tipos celulares responden a los glucocorticoides de modo diferente. En los adipocitos, por ejemplo, la producción de tirosinaminotransferasa está reducida, mientras que otros tipos celulares no responden a los glucocorticoides. Estos ejemplos ilustran una característica general de la especialización celular: tipos celulares diferentes responden de distinta forma a la misma señal extracelular. Como base de estas modificaciones que se producen en respuesta a señales extracelulares, hay características del patrón de expresión génica que no cambian y que le dan a cada tipo celular su característica distintiva permanente.

La expresión génica puede ser regulada en muchas etapas en la vía del DNA al RNA y a la proteína

Si las diferencias entre varios tipos celulares de un organismo dependen de genes particulares que expresan las células, ¿a qué nivel se ejerce el control de la expresión génica? Como se expresó en el capítulo anterior, existen muchas etapas en la vía que lleva del DNA a la proteína, y todas ellas en principio pueden ser reguladas. Por tanto, una célula puede controlar las proteínas que sintetiza 1) controlando cuándo y con qué frecuencia se transcribe un gen, 2) controlando cómo se corta y se empalma o procesa de algún modo el transcripto de RNA, 3) seleccionando cuáles mRNA se exportan del núcleo al citosol, 4) degradando en forma selectiva ciertas moléculas de mRNA, (5) seleccionando cuáles mRNA son traducidos por los ribosomas o (6) activando o inactivando en forma selectiva las proteínas después de su producción (**Fig. 8-3**).

La expresión génica puede regularse en cada uno de estos pasos, y en este capítulo se describirán algunos puntos de control a lo largo de vía desde el DNA hasta la proteína. Para la mayoría de los genes, sin embargo, el control de la transcripción (paso número 1, Fig. 8-3) es supremo. Esto tiene sentido porque sólo el control transcripcional puede asegurar que no se sinteticen intermediarios innecesarios. Por esa razón es que se considerará primero la transcripción, el DNA y los componentes proteicos que determinan qué genes se transcriben a RNA en una célula.

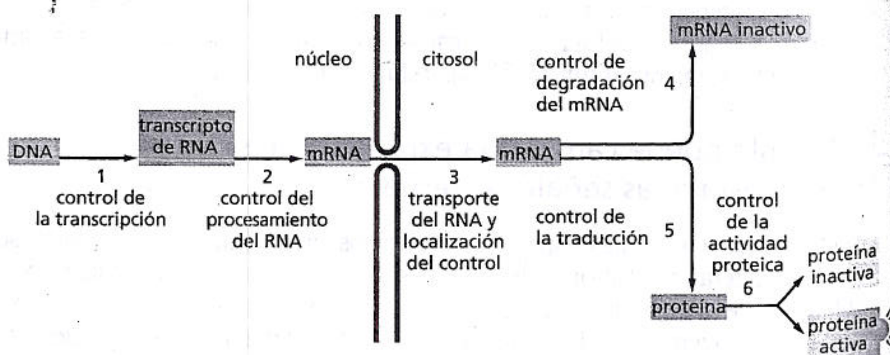


Figura 8-3. La expresión génica eucarionte puede controlarse en etapas diferentes. Se conocen diferentes ejemplos de regulación de cada etapa, aunque para la mayoría de los genes el principal sitio de control es el paso 1: la transcripción de una secuencia de DNA en RNA.

CÓMO FUNCIONAN LOS INTERRUPTORES DE LA TRANSCRIPCIÓN

Hace cincuenta años fue revolucionaria la idea de que los genes podían activarse e inhibirse. Este concepto representó un gran progreso, y se originó en el estudio de la forma en que las bacterias *E. coli* se adaptan a los cambios en la composición de su medio de crecimiento. Muchos de los mismos principios se aplican a las células eucariontes. Sin embargo, la enorme complejidad de la regulación génica en los organismos superiores, en combinación con la localización de su DNA en la cromatina, crea cambios especiales y oportunidades nuevas para el control. Se comenzará con un análisis acerca de los *reguladores transcripcionales*, proteínas especializadas que controlan la expresión génica en el nivel de la transcripción.

La transcripción es controlada por proteínas de unión a las secuencias del DNA regulatorias

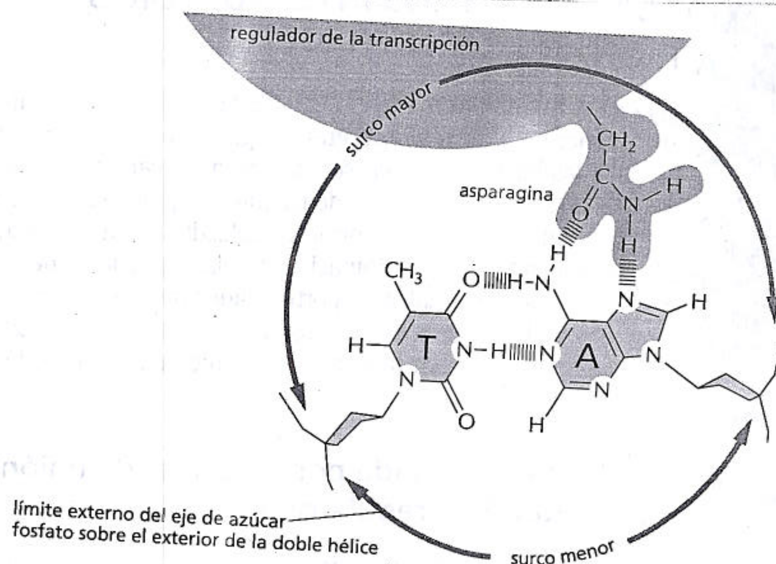
El control de la transcripción suele producirse al comienzo del proceso. En el capítulo 7 se dijo que la región promotora de un gen atrae a la enzima RNA polimerasa y la orienta correctamente para comenzar su tarea de síntesis de una copia de RNA del gen. Los promotores de los genes bacterianos y eucariontes contienen un *sitio de iniciación*, donde en realidad comienza la transcripción, y una secuencia de aproximadamente 50 nucleótidos que se extiende corriente arriba desde de iniciación (si se compara la dirección de la transcripción con el flujo de un río). Esta región contiene sitios necesarios para que la RNA polimerasa se una al promotor. Además del promotor, casi todos los genes, ya sean bacterianos o eucariontes, tienen **secuencias de DNA reguladoras** que activan o inhiben los genes.

Algunas secuencias de DNA reguladoras sólo tienen 10 pares nucleótidos de extensión y actúan como un simple interruptor de genes que responde a una sola señal. Estos interruptores simples predominan en las bacterias. Otras secuencias de DNA reguladoras, especialmente las de eucariontes, son muy largas (a veces más de 10.000 pares de nucleótidos) y funcionan como microprocesadores moleculares que integran información a partir de diversas señales en una instrucción que determina la frecuencia con la que se inicia la transcripción.

Las secuencias de DNA reguladoras no funcionan por sí mismas. Para tener efecto, los **reguladores de la transcripción** que se unen al DNA deben reconocerlas. La combinación de una secuencia de DNA y sus moléculas proteicas asociadas es la que actúa como el interruptor para controlar la transcripción. La bacteria más simple codifica cientos de reguladores de la transcripción, cada uno de los cuales reconocen una secuencia de DNA diferente y, por lo tanto, regula un grupo distintivo de genes. Los seres humanos denotan, muchas veces más, la importancia y la complejidad de esta forma de regulación génica en la producción de un organismo complejo.

Las proteínas que reconocen una secuencia de DNA específica lo hacen porque su superficie encaja justo en superficies especiales características de la doble hélice en esta región. Estas características varían de acuerdo con la secuencia de nucleótidos, de manera que diferentes proteínas reconocerán distintas secuencias nucleotídicas. En gran parte de los casos, las proteínas se insertan en el surco mayor de la hélice de DNA (véase Fig. 5-8) y realizan una serie de contactos moleculares con los pares de bases. La proteína forma puentes de hidrógeno, enlaces iónicos e interacciones hidrófobas con los bordes de las bases, generalmente sin alterar los puentes de hidrógeno que mantienen a los pares bases entre sí (Fig. 8-4). Aunque cada contacto individual es débil, los 20 contactos o más que típicamente se forman en la interfase proteína-DNA se combinan asegurando que la interacción sea muy específica y fuerte; en efecto, las interacciones DNA-proteína están entre las interacciones moleculares más estrechas y más específicas que se conocen en biología.

Figura 8-4. Un regulador de la transcripción se une al surco mayor de una hélice de DNA. Se muestra solamente un único contacto entre la proteína y un par de bases en el DNA. Típicamente, la interfase proteína-DNA consiste en 10 a 20 de estos contactos, cada uno involucra diferentes aminoácidos y contribuyen a la fuerza de la interacción proteína-DNA.



Aunque cada ejemplo de reconocimiento proteína-DNA es único en detalle, muchas de las proteínas responsables de la regulación génica reconocen el DNA a través de uno o varios motivos estructurales. Estos encajan en el surco mayor de la doble hélice del DNA y forman asociaciones estrechas con un segmento corto de pares de bases de DNA. Los *motivos de unión al DNA* que se muestran en la figura 8-5 –el homeodominio, el dedo de cinc y la cremallera de leucina– están en los reguladores de la transcripción que controlan la expresión de miles de genes distintos en casi todos los organismos eucariontes. Con frecuencia, las proteínas de unión al DNA se unen de a pares (dímeros) a la hélice del DNA. La dimerización duplica el área de contacto con el DNA e incrementa de este modo la fuerza y la especificidad de la interacción proteína–DNA. Como dos proteínas diferentes pueden aparearse en diferentes combinaciones, la dimerización también hace posible que un número limitado de proteínas reconozcan muchas secuencias diferentes de DNA.

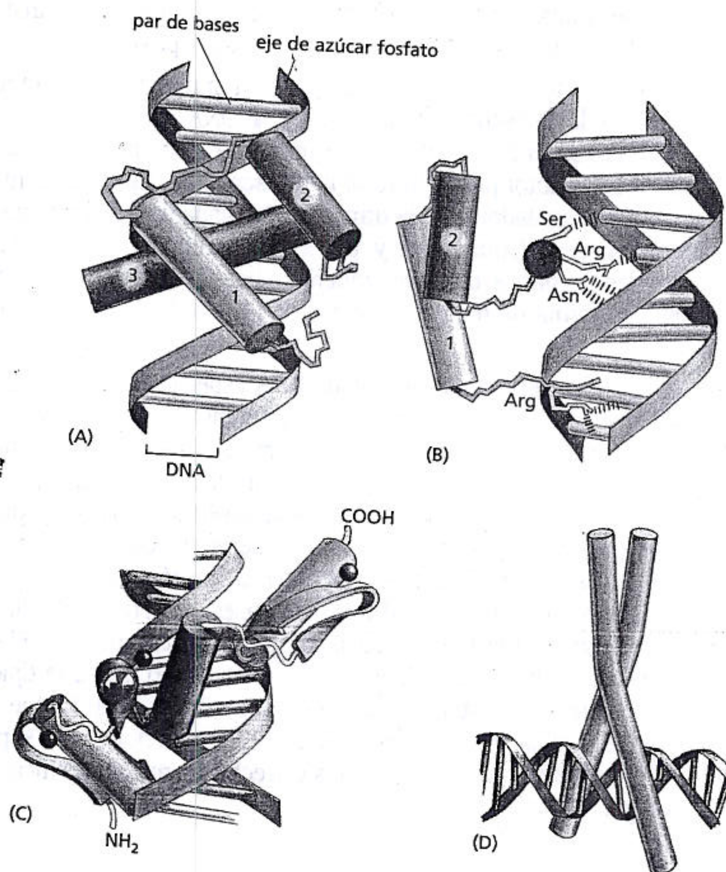


Figura 8-5. Los reguladores de la transcripción contienen diversos motivos de unión al DNA. (A y B) Vistas frontal y lateral del *homeodominio*, un motivo estructural en muchas proteínas de unión al DNA de eucariontes (Película 8.1). Consiste en tres hélices α unidas, que se muestran como cilindros en esta figura. La mayoría de los contactos con las bases del DNA se producen a partir la hélice 3 (que es vista de frente en B). La asparagina (Asn) en esta hélice contacta una adenina como se muestra en la figura 8-4. (C) El motivo del *dedo de cinc* está formado por una hélice α y una lámina (que se representa como una *flecha enroscada*) que se mantienen juntas mediante una molécula de dedo de cinc (indicada por las *esferas coloreadas*). Los dedos de cinc, a menudo, se encuentran en grupos unidos de manera covalente lo que permite a la hélice de cada dedo contactar a las bases del DNA en el surco mayor (Película 8.2). La ilustración muestra un grupo de tres dedos de cinc. (D) Un motivo de *cremallera de leucina*. Este motivo de unión al DNA está formado por dos hélices, cada una aportada por una molécula proteica diferente. Las proteínas de cremallera de leucina, por lo tanto, se unen al DNA como dímeros, que sujetan a la doble hélice como un broche para ropa (Película 8.3).

Cada uno de estos motivos hace muchos contactos con el DNA. Para simplificar, en (B) solo se muestran los contactos de los enlaces de hidrógeno, y en (C) y en (D) no se muestran contactos individuales proteína-DNA.

Los interruptores de la transcripción permiten que las células respondan a los cambios ambientales

El ejemplo de regulación génica más simple y más entendible se produce en las bacterias y en los virus que las infectan. El genoma de la bacteria *E. coli* consiste en una única molécula de DNA circular de alrededor de 4,6 × 10^6 pares de nucleótidos. Este DNA codifica aproximadamente 4.300 proteínas, aunque solo una fracción de éstas se sintetizan en un momento dado. Las bacterias regulan la expresión de muchos de sus genes de acuerdo con la fuente de nutrientes disponibles en el ambiente. Por ejemplo, en *E. coli*, cinco genes codifican enzimas que sintetizan el aminoácido triptófano. Estos genes están agrupados en el cromosoma y se transcriben a partir de un único promotor como una molécula de mRNA grande a partir de la cual se traducen cinco proteínas (Fig. 8–6). Cuando el triptófano esta presente en los alrededores y entra a la célula bacteriana, las enzimas ya no son necesarias y se desactiva su producción. Esta situación surge, por ejemplo, cuando la bacteria se encuentra en el intestino de un mamífero que recién ha ingerido un alimento rico en proteína. Estos cinco genes que se expresan en forma coordinada son parte de un *operón*, un conjunto de genes que se transcriben en un solo mRNA. Los operones son comunes en las bacterias pero no se encuentran en los eucariontes, donde los genes se transcriben y regulan de manera individual (véase la Figura 7–36).

No se comprende en gran detalle cómo funciona el operón triptófano. Dentro del promotor existe una secuencia corta de DNA (15 nucleótidos de longitud) que es reconocida por un regulador de la transcripción. Cuando esta proteína se une a la secuencia nucleotídica, denominada *operador*, se bloquea el acceso de la RNA polimerasa al promotor; esto evita la transcripción del operón y la producción de enzimas que sintetizan triptófano. El regulador de la transcripción se conoce como represor triptófano, y éste es controlado de una manera ingeniosa: el represor puede unirse al DNA sólo si también tiene unidas varias moléculas del aminoácido triptófano (Fig. 8–7).

El represor triptófano también es una proteína alostérica (véase Figura 4–37): la unión del triptófano causa un cambio sutil en su estructura tridimensional de manera tal que la proteína puede unirse a la secuencia del operador. Cuando la concentración de triptófano libre en la célula desciende, el represor no une más triptófano y por lo tanto no se une más al DNA, y se transcribe el operón triptófano. De esta forma el represor es un dispositivo simple que enciende y apaga la producción de un conjunto de enzimas biosintéticas de acuerdo con la disponibilidad del producto final de la vía que catalizan las enzimas.

La bacteria responde muy rápidamente a la elevación en la concentración de triptófano debido a que la proteína represora de triptófano por sí misma siempre está presente en la célula. El gen que la codifica se transcribe de manera continua a nivel bajo, por lo tanto siempre se sintetiza una pequeña cantidad de proteína represora. Tal expresión génica desregulada se conoce como expresión génica *constitutiva*.

PREGUNTA 8-1

Las células bacterianas pueden incorporar el aminoácido triptófano (Trp) del medio circundante, o si el suministro externo es insuficiente pueden sintetizar triptófano a partir de otras moléculas pequeñas. El represor de Trp es un regulador de la transcripción que silencia la transcripción de los genes que codifican las enzimas necesarias para la síntesis de triptófano (véase Fig. 8-7).

A. ¿Qué le sucedería a la regulación del operón triptófano en las células que expresan una forma mutante del represor triptófano que (1) no puede unirse al DNA, (2) no puede unirse triptófano, o (3) se une al DNA incluso en ausencia de triptófano?

B. ¿Qué sucedería en los escenarios (1) (2) y (3) si las células, además, producen proteína represora de triptófano normal a partir de un segundo gen normal?

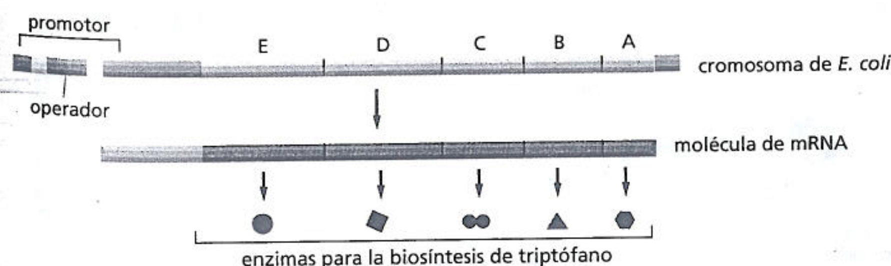


Figura 8-6. Un grupo de genes bacterianos puede transcribirse a partir de un único promotor. Cada uno de estos cinco genes codifica una enzima diferente; todas las enzimas son necesarias para sintetizar el aminoácido triptófano. Los genes se transcriben como una única molécula de mRNA, una característica que permite que su expresión sea coordinada. Los grupos de genes transcriptos como una única molécula de mRNA son comunes en las bacterias. Cada uno de los grupos se denomina *operón*; la expresión del operón triptófano que aquí se representa es controlada por una secuencia reguladora de DNA denominada *operador*, situada dentro del promotor.

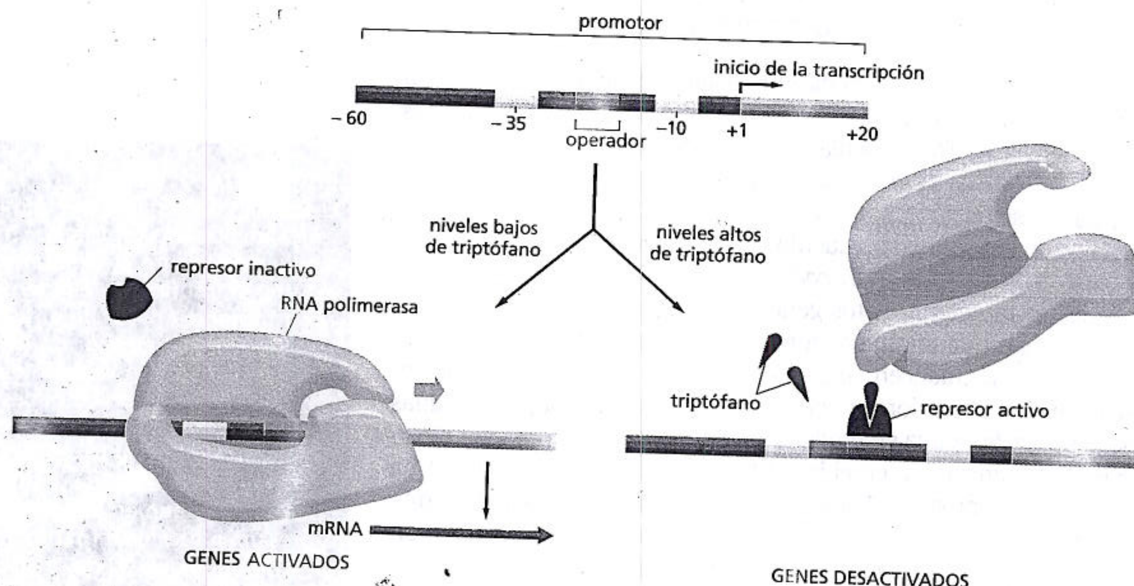


Figura 8-7 Los genes pueden activarse o inhibirse con proteínas represoras. Si la concentración de triptófano dentro de la célula es baja, la RNA polimerasa *(azul)* se une al promotor y transcribe los cinco genes del operón triptófano *(izquierda)*. Si la concentración de triptófano es elevada, la proteína represora *(verde oscuro)* se activa y se une al operador *(verde claro)*, donde bloquea la unión de la RNA polimerasa al promotor *(derecha)*. Cada vez que la concentración intracelular de triptófano desciende, el represor libera su triptófano y se desprende del DNA, esto le permite a la polimerasa transcribir nuevamente el operón. El promotor se indica por dos bloques clave de la información de la secuencia de DNA, las regiones -35 y -10, destacadas en *amarillo* (véase además Fig. 7-10). El operón completo se muestra en la figura 8-6.

Los represores inhiben la expresión de los genes y los activadores la estimulan

El represor de triptófano, como su nombre lo indica, es una proteína **represora**, y en su forma activa, inhibe los genes o los *reprime*. Algunos reguladores de la transcripción bacterianos realizan lo opuesto: estimulan genes, o los activan. Estas proteínas **activadoras** funcionan sobre los promotores que, en contraste con el promotor del operador del triptófano, son en sí mismas, poco capaces de unirse y posicionar a la RNA polimerasa; ellas pueden, por ejemplo, ser reconocidas escasamente por la polimerasa. Sin embargo, estos promotores que funcionan moderadamente pueden volverse por completo funcionales por proteínas activadoras que se unen a un sitio cercano sobre el DNA y se ponen en contacto con la RNA polimerasa de manera que la ayudan a iniciar la transcripción (Fig. 8-8). En algunos casos, un regulador de la transcripción bacteriano puede reprimir la transcripción en un promotor y activar la transcripción en otro; si la proteína reguladora actúa como un represor o un activador depende, en gran parte, del lugar exacto donde se localice la secuencia regulatoria a la cual debe unirse con respecto al promotor.

Al igual que con el represor de triptófano, las proteínas activadoras suelen interactuar con una segunda molécula, lo que les permite unirse al DNA. Por ejemplo, la proteína activadora bacteriana CAP tiene que unir AMP cíclico (cAMP) antes de

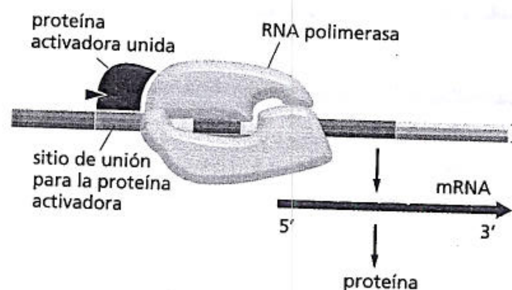


Figura 8-8. La expresión génica también puede controlarse con proteínas activadoras. Una proteína activadora se une a una secuencia reguladora en el DNA y luego interactúa con la RNA polimerasa iniciando la transcripción. Sin el activador, el promotor fracasa en la tarea de comenzar la transcripción en forma eficiente. En las bacterias, la unión del activador al DNA se controla por la interacción de un metabolito u otra molécula pequeña *(triángulo rojo)* con la proteína activadora. Por ejemplo, la proteína activadora del catabolito bacteriano (CAP) debe unir AMP cíclico (cAMP) antes de que pueda unirse al DNA; por lo tanto, CAP le permite a los genes activarse en respuesta a un aumento de la concentración de cAMP intracelular.

que pueda unirse al DNA. Los genes activados por CAP lo hacen en respuesta a un aumento de la concentración intracelular de cAMP, que le indica a la bacteria que la glucosa, su fuente de carbono preferida, no está más disponible; como resultado, la proteína CAP conduce la producción de enzimas capaces de degradar otros azúcares.

Un activador y un represor controlan al operón *Lac*

En muchas instancias, la actividad de un solo promotor puede ser controlada por dos señales diferentes. El operón *Lac* en *E. coli*, por ejemplo, es controlado por el represor Lac y la proteína activadora CAP. El operón *Lac* codifica proteínas requeridas para importar y digerir el disacárido lactosa. En ausencia de glucosa, CAP activa los genes que le permiten a la célula utilizar fuentes alternativas de carbono, incluida la lactosa. Sin embargo, sería un derroche para CAP inducir la expresión del operón *Lac* cuando la lactosa no está presente. Por lo tanto, el represor Lac asegura que se inactive el operón en ausencia de lactosa. Esta disposición permite que la región de control del operón *Lac* responda y se integre a dos señales diferentes, de modo que el operón se expresa bien sólo cuando se reúnen las dos condiciones: la lactosa debe estar presente y la glucosa ausente (Fig. 8-9). Este circuito genético por ende actúa como un interruptor que realiza una función lógica en una computadora. Cuando la lactosa está presente y la glucosa ausente, la célula ejecuta el programa adecuado: en este caso, la transcripción de los genes que permiten la incorporación y la utilización de la lactosa.

La lógica simple de este cambio genético atrajo por primera vez la atención de los biólogos hace más de 50 años. Las bases moleculares del interruptor fueron descubiertas por bioquímicos y genetistas, que proporcionaron los indicios iniciales sobre cómo se controla la expresión génica. En una célula eucarionte se combinan los mismos circuitos regulatorios de la expresión génica, que generan circuitos más complejos. En efecto, el programa de desarrollo que le toma a un óvulo fecundado convertirse en un adulto puede visualizarse como un circuito por demás complejo formado por componentes más simples al igual que aquellos que controlan a los operones *Lac* y triptófano.

PREGUNTA 8-2

Explique cómo las proteínas de unión al DNA pueden hacer contacto con una secuencia específica de la molécula de DNA bicatenario sin romper los enlaces de puentes de hidrógeno que mantienen unidas a las bases. Indique cómo, mediante esos contactos, una proteína puede distinguir un par T–A de un par C–G. Dé la respuesta en una forma similar a la ejemplificada en la figura 8-4 e indique los tipos de enlaces no covalentes que se formarán (enlaces de hidrógeno, enlaces iónicos o interacciones hidrófobas; véase Lámina 2-7, pp. 76-77). No hay necesidad de especificar ningún aminoácido particular en la proteína. En la figura 5-6 se representaron las estructuras de todos los pares de bases en el DNA.

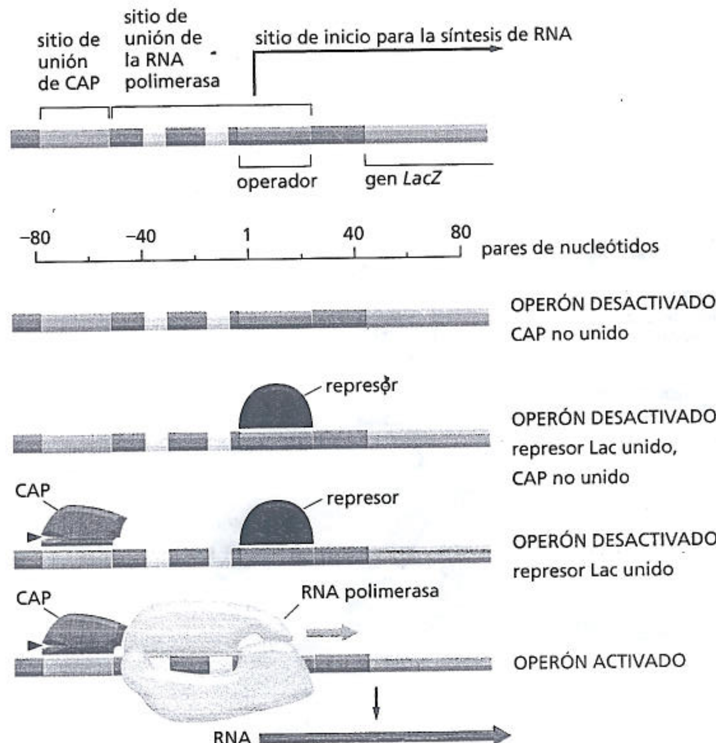


Figura 8-9. El operón *Lac* es controlado por dos señales. Los niveles de glucosa y de lactosa controlan la iniciación de la transcripción del operón *Lac* mediante sus efectos sobre la proteína represora Lac y sobre la proteína CAP. Cuando la lactosa está ausente, el represor Lac se une al operador *Lac* y desactiva la expresión del operón. El agregado de lactosa aumenta la concentración intracelular de un compuesto relacionado, la alolactosa. Ésta se une a la proteína represora, provocando un cambio en su conformación que la libera del DNA operador (no se muestra). Cuando la glucosa está ausente, se produce AMP cíclico *(triángulo rojo)* y el CAP se une al DNA. *LacZ*, el primer gen del operón, codifica la enzima β–galactosidasa, que hidroliza la lactosa en galactosa y glucosa.

Los reguladores de la transcripción eucariontes controlan la expresión génica a distancia

Los eucariontes también tienen reguladores de la transcripción –activadores y represores– que modulan la expresión de sus genes. Los sitios del DNA a los cuales se unen los activadores génicos eucariontes originalmente se denominaron *potenciadores* o *amplificadores* ya que su presencia incrementaba en gran medida la velocidad de transcripción. Fue una sorpresa para los biólogos cuando, en 1979, se descubrió que estas proteínas activadoras podían unirse a miles de pares de nucleótidos alejados del promotor del gen. Además funcionan cuando se unen corriente arriba o corriente abajo del gen. A partir de estas observaciones surgen diversos interrogantes. ¿Cómo funcionan las secuencias de los amplificadores y las proteínas que se les unen a distancias tan grandes? ¿Cómo se comunican con el promotor?

Se propusieron muchos modelos para la "acción a distancia", pero el más simple parece aplicarse en la mayor parte de los casos. El DNA que se encuentra entre el amplificador y el promotor forma bucles que permiten que las proteínas activadoras influyan directamente sobre los procesos que tienen lugar en el promotor (Fig. 8-10). El DNA actúa como un lazo y determina que la proteína unida a un amplificador incluso a miles de pares de nucleótidos de distancia interactúe con las proteínas que están cerca del promotor, incluyendo la RNA polimerasa II y los factores de transcripción generales (véase Fig. 7-12).Con frecuencia, proteínas adicionales actúan como enlaces entre los reguladores de la transcripción unidos a distancia con estas proteínas en el promotor; el más importante es un gran complejo de proteínas conocido como *mediador* (véase Fig. 8-10). Una de las formas de funcionamiento de las proteínas activadoras eucariontes es cooperar en el ensamblaje de los factores de transcripción y de la RNA polimerasa al promotor. Las proteínas represoras eucariontes realizan lo opuesto: disminuyen la transcripción al impedir el ensamblado del complejo proteico en sí mismo.

Los reguladores eucariontes tienen un mecanismo de acción adicional: atraen proteínas que modulan la estructura de la cromatina y de este modo afectan la accesibilidad del promotor a los factores de transcripción generales y a la RNA polimerasa, como se describe a continuación.

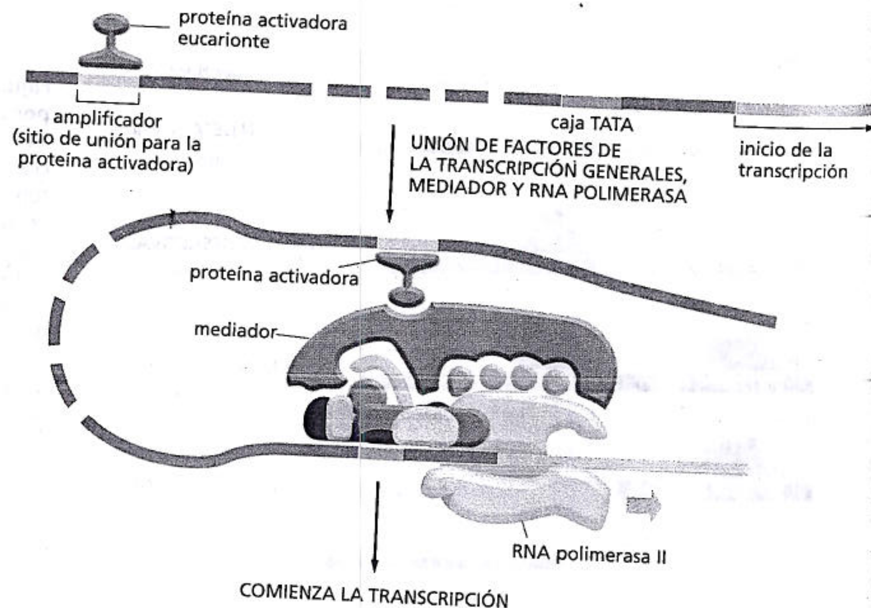


Figura 8-10. En eucariontes, la activación génica se produce a distancia. Una proteína activadora que se une al DNA atrae a la RNA polimerasa y a los factores de transcripción generales al promotor (véase Fig. 7-12). La formación de un bucle de DNA permite el contacto entre la proteína activadora unida al amplificador y el complejo de transcripción unido al promotor. En el caso que aquí se muestra, un gran complejo de proteínas denominado *mediador* sirve como intermediario. El tramo entrecortado de DNA entre el amplificador y el inicio de la transcripción varía, y tiene a veces decenas de miles de pares de nucleótidos de longitud.

El empaquetamiento del promotor de DNA en los nucleosomas afecta la iniciación de la transcripción

La iniciación de la transcripción en las células eucariontes debe tener en cuenta el empaquetamiento del DNA en la cromatina. Como se expresó en el capítulo 5, el material genético en las células eucariontes está empaquetado en los nucleosomas que, a su vez, se hallan plegados en estructuras de orden superior. ¿Cómo hacen los reguladores de la transcripción y la RNA polimerasa para ganar acceso a este DNA? Los nucleosomas pueden inhibir el inicio de la transcripción si se sitúan sobre un promotor, probablemente porque bloquean físicamente el ensamblaje de los factores de transcripción generales o de la RNA polimerasa sobre el promotor. En efecto, el empaquetamiento de la cromatina puede haber evolucionado en parte evitando la expresión génica defectuosa, la iniciación de la transcripción en ausencia de las proteínas activadoras apropiadas.

En las células eucariontes, las proteínas activadoras y represoras utilizan la estructura de la cromatina en la activación e inhibición de los genes. Como se describió en el capítulo 5, las células pueden alterar la estructura de la cromatina con la ayuda del complejo de remodelación de la cromatina y enzimas que modifican de manera covalente las histonas que son las proteínas del centro del nucleosoma (véanse Figs. 5-27 y 5-28). Muchos activadores génicos usan estos mecanismos mediante el reclutamiento local de estas proteínas a los promotores (Fig. 8-11). Por ejemplo, muchos activadores de la transcripción atraen *histonas* acetilasas, que adhieren un grupo acetilo a lisinas seleccionadas en la cola de las proteínas histonas. Esta modificación altera la estructura de la cromatina probablemente al permitir un mayor acceso al DNA; más aun, los grupos acetilos en sí mismos son reconocidos por proteínas que estimulan la transcripción, incluyendo algunos de los factores de transcripción generales.

Del mismo modo, las proteínas represoras pueden modificar la cromatina en formas que reducen la eficiencia de la iniciación de la transcripción. Por ejemplo, muchos represores atraen *histonas desacetilasas*, enzimas que eliminan los grupos acetilos de las colas de las histonas revirtiendo así los efectos positivos que tiene la acetilación sobre la iniciación de la transcripción. Aunque algunas proteínas represoras eucariontes funcionan sobre una base de gen por gen, otras pueden instrumentar la formación de grandes filas de cromatina transcripcionalmen-

PREGUNTA 8-3

Algunos reguladores de la transcripción se unen al DNA y causan que la doble hélice se curve en un ángulo agudo. Estas "proteínas de unión" pueden estimular la iniciación y la transcripción sin contactar a la RNA polimerasa, o cualquiera de los factores de transcripción generales u otros. ¿Puede usted idear una explicación plausible de cómo estas proteínas podrían modular la transcripción? Dibuje un diagrama que ilustre su explicación.

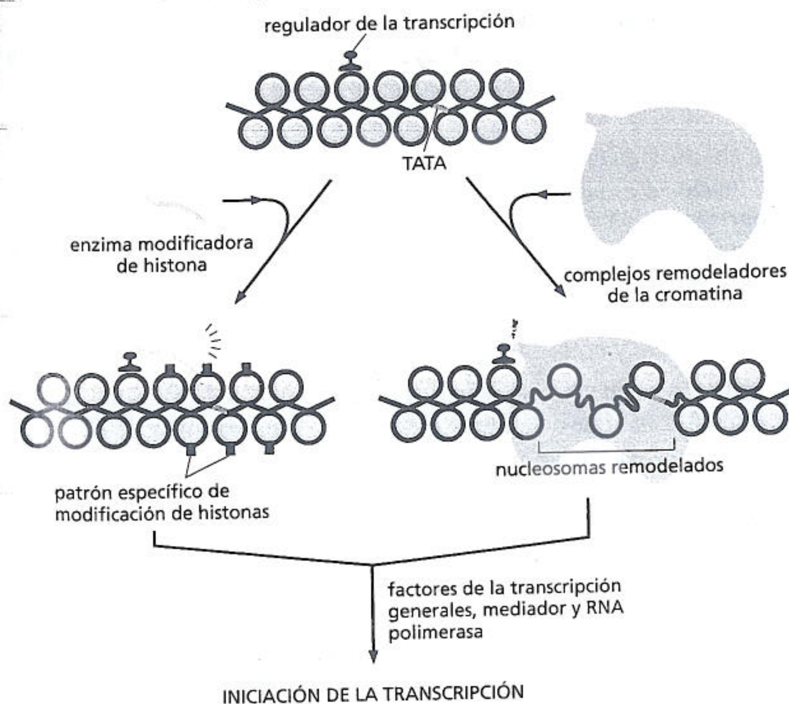


Figura 8-11. Las proteínas activadoras génicas de eucariontes pueden dirigir alteraciones locales en la estructura de la cromatina. Las proteínas activadoras pueden reclutar enzimas modificadoras de las histonas y complejos remodeladores de la cromatina a la región promotora de un gen. La acción de estas proteínas torna al DNA localizado en una cromatina más accesible a otras proteínas en la célula, como las requeridas para la iniciación de la transcripción. Además, las modificaciones covalentes de las histonas pueden actuar como sitios de unión para proteínas que estimulan la iniciación de la transcripción.

te inactiva que contiene muchos genes. Como se describió en el capítulo 5, estas regiones de DNA resistentes a la transcripción incluyen a la heterocromatina que se encuentra en los cromosomas en interfase y al cromosoma X en su totalidad en las hembras de mamíferos.

LOS MECANISMOS MOLECULARES QUE CREAN TIPOS DE CÉLULAS ESPECIALIZADAS

Aunque todas las células deben ser capaces de activar o inhibir genes en respuesta a cambios en su medio ambiente, las células de los organismos multicelulares desarrollaron esta capacidad en un grado extremo y de modos muy especializados formando un conjunto organizado de tipos celulares diferentes. En particular, una vez que una célula en un organismo multicelular llega a diferenciarse en un tipo celular específico, la elección se mantiene generalmente a través de muchas generaciones celulares subsecuentes. Esto significa que deben recordarse los cambios en la expresión génica, que suelen desencadenarse por una señal transitoria. Este fenómeno de *memoria celular* es un prerrequisito que crea tejidos organizados y mantiene tipos celulares diferenciados. Por el contrario, los cambios más simples en la expresión génica en los eucariontes y en las bacterias son solo transitorios; el represor de triptófano, por ejemplo, inhibe los genes de triptófano en las bacterias sólo ante la presencia de triptófano; en cuanto el triptófano se elimina del medio, los genes vuelven a su estado activo, y los descendientes de la célula no "recordarán" que sus precursores estuvieron expuestos al triptófano.

En esta sección comentaremos algunas de las características especiales de la regulación transcripcional en los organismos multicelulares. Nos centraremos en cómo se crean y se mantienen estos mecanismos en los tipos celulares especializados que dan origen a las características distintivas de un gusano, una mosca o un ser humano.

Los genes de eucariontes se regulan por combinaciones de proteínas

Debido a que los reguladores de la transcripción de eucariontes pueden controlar la iniciación de la transcripción cuando se unen al DNA muchos pares de bases alejadas del promotor, las secuencias de nucleótidos que controlan la expresión de un gen pueden estar diseminadas en largos tramos de DNA. En los animales y las plantas es común hallar las secuencias reguladoras de un gen a decenas de miles de pares de nucleótidos, aunque la mayor parte de este DNA son secuencias "espaciadoras" y no son reconocidas directamente por los reguladores de la transcripción.

Hasta ahora en este capítulo se trataron a los reguladores de la transcripción como si cada una funcionara individualmente activando o inhibiendo un gen. Mientras que este concepto es válido para muchos activadores y represores bacterianos, casi todos los reguladores de la transcripción en los eucariontes funcionan como parte de una "comisión" de proteínas reguladoras, y todas son necesarias para expresar el gen en la célula correcta, en respuesta a las condiciones apropiadas, en el tiempo adecuado y en la cantidad requerida.

El término **control combinatorio** se refiere al modo agrupado de funcionamiento de las proteínas regulatorias que determina la expresión de un solo gen. Se dio un simple ejemplo de esa regulación por múltiples señales cuando se analizó el operón bacteriano *Lac* (véase Fig. 8-9). En los eucariontes, las entradas regulatorias se amplificaron: un gen típico, por ejemplo, es controlado por docenas de reguladores de la transcripción (Fig. 8-12). Frecuentemente, algunas de estas proteínas reguladoras son represoras y otras activadoras; los mecanismos moleculares por los cuales los efectos de estas proteínas se suman y determinan el nivel final de expresión de un gen están siendo dilucidados. Un ejemplo de ese sistema regulatorio complejo –el que participa en el desarrollo de la mosca de la fruta a partir de un gameto femenino fecundado– se describe en Biología experimental, pp. 282–284.

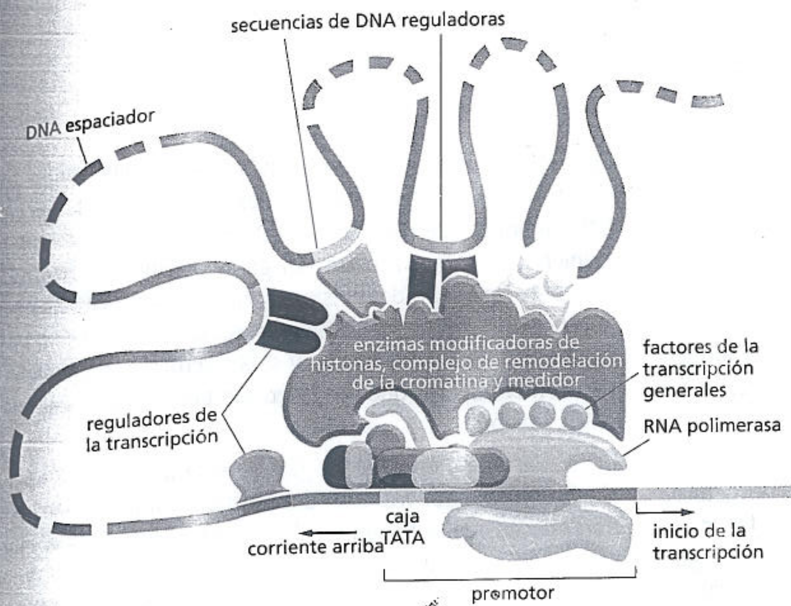


Figura 8-12. Los reguladores de la transcripción funcionan como una "comisión" que controla la expresión de un gen eucarionte. Mientras que los factores de transcripción generales que se ensamblan en el promotor son los mismos para todos los genes transcriptos por la polimerasa II, los reguladores de la transcripción y las localizaciones de sus sitios de unión en relación con sus promotores difieren para los distintos genes. Los efectos de múltiples reguladores de la transcripción se combinan y determinan la velocidad del comienzo de la transcripción. Sin embargo, no se conoce bien en detalle cómo se combinan estos efectos para un gen determinado.

La expresión de diferentes genes puede ser coordinada por una única proteína

Las bacterias y los eucariontes deben ser capaces de activar o inhibir genes individualmente y de coordinar la expresión de distintos genes. Cuando una célula eucarionte recibe una señal para dividirse, por ejemplo, diversos genes que hasta ese momento no se expresaban se activan conjuntamente y se ponen en marcha los procesos que llevan finalmente a la división celular (véase capítulo 18). Un modo de coordinar la expresión de un grupo de genes que emplean las bacterias es agrupándolos en un operón bajo el control de un único promotor (véase Fig. 8-6). Este no es el caso de las células eucariontes, donde cada gen se transcribe y se regula de manera individual. ¿Cómo hacen los eucariontes para coordinar la expresión génica? En particular, puesto que una célula eucarionte utiliza una "comisión" de reguladores de la transcripción para controlar a cada uno de sus genes, ¿cómo puede estimular o inhibir con rapidez y precisión grupos enteros de genes? La respuesta es que, incluso cuando el control de la expresión génica es combinatorio, el efecto de un único regulador de la transcripción todavía puede ser decisivo en la activación o la inhibición de cualquier gen en particular simplemente completando la combinación necesaria para activar o reprimir al gen. Esto es como marcar el número final en una cerradura de combinación; la cerradura se abrirá si previamente se han introducido los otros números. Así, como el mismo número puede completar la combinación de diferentes cerraduras, la misma proteína puede completar la combinación para varios genes distintos. Puesto que genes diferentes contienen la secuencia de DNA reconocida por el mismo regulador de la transcripción, éstos pueden ser activados o inhibidos juntos, como una unidad.

Un ejemplo de esta forma de regulación en el ser humano es la *proteína receptora de glucocorticoides*. Para unirse a los sitios reguladores en el DNA, este regulador de la transcripción primero debe formar un complejo con una molécula de una hormona glucocorticoide (p. ej., cortisol; véase cuadro 16-1). En respuesta a los glucocorticoides, las células hepáticas aumentan la expresión de muchos genes distintos, uno de los cuales codifica a la enzima tirosinaminotransferasa, como se señaló anteriormente. Todos estos genes son regulados por la unión del complejo hormona glucocorticoide-receptor a una secuencia reguladora en el DNA de cada gen. Cuando el cuerpo se ha recuperado y la hormona no está más presente, la expresión de todos esos genes se reduce a su nivel normal. De esta forma, un solo regulador de la transcripción puede controlar la expresión de muchos genes diferentes (Fig. 8-17).

LA REGULACIÓN GÉNICA - LA HISTORIA DE *EVE*

La capacidad para regular la expresión génica es clave en el desarrollo adecuado de los organismos multicelulares desde el óvulo fecundado hasta un adulto fértil. Desde los momentos más tempranos del desarrollo, una sucesión de programas controlan la expresión diferencial de los genes que le permiten a un animal formar un plan corporal apropiado, que distingue el dorso de abdomen y la cabeza de la cola. Estas señales finalmente dirigen la localización correcta de un ala o una pata, de la boca o del ano, de una neurona o de una célula sexual.

Un problema central en el desarrollo es comprender el modo en que un organismo genera estos patrones de expresión génica, que se establecen dentro de las horas de producida la fecundación. Gran parte de la historia se basa en la acción de los reguladores génicos. Mediante la interacción con diferentes secuencias de DNA regulatorio estas proteínas instruyen a cada una de las células embrionarias a activar los genes apropiados para cada célula en cada momento del desarrollo. ¿Cómo puede una proteína unida a un fragmento de DNA contribuir a encauzar el desarrollo de un organismo multicelular complejo? Para abordar esta pregunta se revisará la historia de *Eve*.

Dentro de un gran huevo

Even-skipped –Eve, en forma abreviada– es un gen cuya expresión desempeña un papel importante en el desarrollo del embrión de *Drosophila*. Si este gen se inactiva por mutación, muchas partes del embrión no se forman y la larva de mosca mueren tempranamente en el desarrollo. En el estadio de desarrollo en el que *Eve* se activa por primera vez, el embrión en desarrollo dentro del huevo todavía es una única célula gigante con múltiples núcleos suspendidos en un citoplasma común. Este embrión, que tiene unos 400 μm de longitud y 160 μm de diámetro, se forma a partir del gameto femenino fecundado a través de una serie de divisiones nucleares rápidas que se producen sin división celular. Finalmente, cada núcleo será incluido en una membrana plasmática y se convertirá en una célula; pero los acontecimientos que nos interesan tienen lugar antes de esta celularización.

El citoplasma de este huevo gigante está lejos de ser uniforme: el extremo anterior (cabeza) del embrión contiene proteínas distintas de las que se hallan en el extremo posterior (cola). La presencia de estas asimetrías en el huevo fecundado y en el embrión temprano se demostraron, por primera vez, en experimentos en los que se extrajo parte del contenido de huevos de *Drosophila*. Si se punza el extremo anterior de un huevo cuidadosamente y se permite que salga una pequeña cantidad de citoplasma, el embrión no desarrollará segmentos cefálicos. Además, si el citoplasma tomado del extremo posterior de otro huevo es inyectado después en la región anterior de algún modo reducida, el animal desarrollará un segundo grupo de segmentos abdominales donde deberían haber estado sus segmentos cefálicos (Fig. 8-16).

Hallazgo de las proteínas

Este experimento demuestra que el patrón de desarrollo cabeza-cola normal es controlado por sustancias localizadas en cada extremo del embrión. Para comenzar a identificar estas molécu-

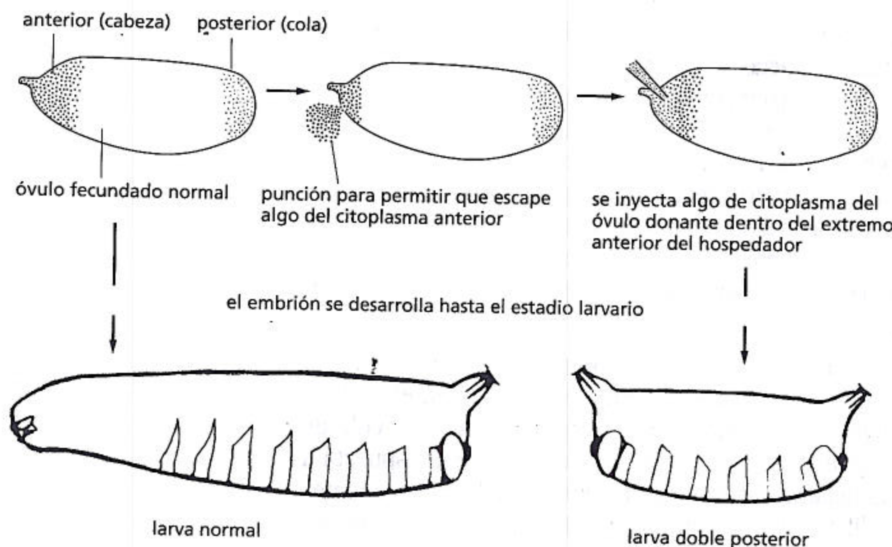


Figura 8-13. Las moléculas localizadas en los extremos de los huevos de *Drosophila* controlan su polaridad anteroposterior. Se permitió la pérdida de una pequeña cantidad de citoplasma del extremo anterior del huevo y se lo reemplazó por una inyección de citoplasma posterior. El embrión de doble cola resultante *(derecha)* muestra una duplicación de al menos tres segmentos abdominales. Se muestra un embrión normal *(izquierda)* para comparación. (Adaptado de C. Nüsslein-Volhard, H. G. Frohnhöfer, R. Lehmann, *Science* 238:1675–1681, 1987. Con autorización de AAAS).

las, los investigadores sometieron los huevos a un tratamiento que inactivaba a los genes de manera aleatoria. Luego buscaron los embriones cuyo plan corporal de cabeza-cola parecía anormal. En estos animales mutantes, los genes que fueron interrumpidos deben codificar proteínas que son importantes para el establecimiento adecuado de la polaridad anteroposterior.

Con este enfoque, los investigadores descubrieron muchos genes que establecen la polaridad anteroposterior, incluidos los genes que codifican cuatro reguladores de la transcripción claves: Bicoid, Hunchback, Krüppel y Giant. Una vez que se identificaron estas proteínas, los investigadores prepararon anticuerpos que reconocieran a cada una de ellas. Estos anticuerpos, unidos a marcadores fluorescentes, se utilizaron a continuación para determinar dónde se localizaba cada proteína en el embrión temprano (véase Lámina 1-1, pp. 8–9).

Los resultados de los experimentos con tinción de anticuerpos son bastante sorprendentes. El citoplasma del embrión temprano, a su vez, contiene una mezcla de estos reguladores, cada uno distribuido en un patrón único a lo largo del embrión (Fig. 8-14). Como resultado, los núcleos dentro de la célula gigante multinucleada comienzan a expresar diferentes genes según el regulador de la transcripción al que están expuestos, que a su vez, depende de la localización de cada núcleo en el embrión. Los núcleos cerca del extremo anterior del embrión, por ejemplo, están expuestos a un grupo de reguladores que difiere del grupo que actúa sobre los núcleos del polo posterior. Por lo tanto, las diferentes cantidades de estas proteínas proporcionan a los núcleos del embrión en desarrollo la información posicional a lo largo del eje anteroposterior del embrión.

Aquí es donde interviene *Eve*. Las secuencias de DNA reguladoras de *Eve* detectan las concentraciones de los reguladores de la transcripción en cada posición a lo largo de la longitud del embrión. En base a esta información, *Eve* se expresa en siete bandas, cada una localizada con precisión a lo largo del eje anteroposterior del embrión. Para descubrir cómo las proteínas reguladoras controlan la expresión de *Eve* con precisión, los investigadores fijaron su atención en la región reguladora del gen E*ve*.

Análisis del DNA

Como se analizó en este capítulo, las secuencias reguladoras controlan qué células en un organismo expresarán un gen particular y en qué punto este gen será activado. Un modo de aprender cuándo y dónde una secuencia de DNA regulatorio estimulará la activación génica es conectar la secuencia a un **gen indicador**, es decir, un gen que codifica una proteína cuya actividad es fácil de observar experimentalmente. Las secuencias de DNA reguladoras dirigirán ahora la actividad del gen marcador. Este segmento artificial de DNA es reintroducido después en una célula o un organismo y se mide la actividad de la proteína indicadora.

Mediante el acoplamiento de varias partes de secuencias reguladoras de *Eve* a un gen informador, los investigadores descubrieron que el gen *Eve* contiene una serie de siete módulos reguladores, cada uno es responsable de la especificación de una banda de expresión de *Eve* a lo largo del embrión. De este modo, por ejemplo, los investigadores pudieron extraer el módulo regulador que especifica la banda 2 a partir de su localización normal corriente arriba de *Eve*, colocarlo frente a un gen indicador y reintroducir esta secuencia de DNA obtenido por ingeniería genética en el genoma de *Drosophila* (Fig. 8-15A). Cuando se examinan los embriones que portan estas construcciones artificiales, se observa que el gen indicador se expresa justamente en la posición de la banda 2 (Fig. 8-15B). Experimentos similares revelaron la existencia de otros módulos reguladores, uno para cada una de las otras seis bandas.

Luego la pregunta sería: ¿cómo hace cada módulo para dirigir la formación de una sola banda en una posición específica? Los investigadores encontraron que cada módulo contiene una combinación única de secuencias reguladoras que unen diferentes combinaciones de cuatro reguladores de la transcripción, que están presentes en gradientes en el embrión temprano. La unidad de la banda 2, por ejemplo, contiene secuencias de reconocimiento para las cuatro proteínas reguladoras: Bicoid y Hunchback que activan la transcripción de *Eve*, y Krüppel y Giant que la reprimen (Fig. 8-16). Las concentraciones relativas de estas cuatro proteínas

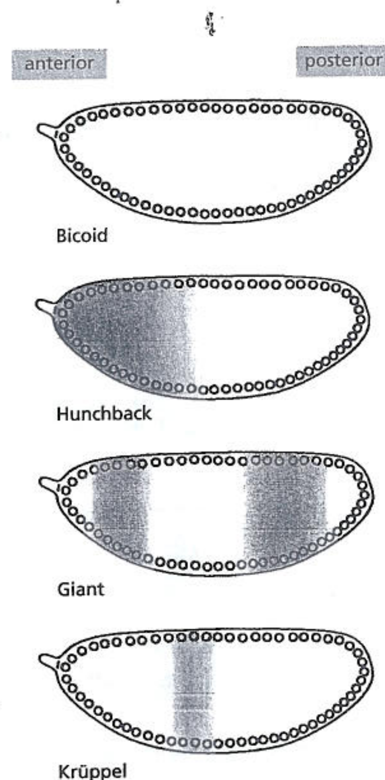


Figura 8-14. El embrión temprano de *Drosophila* muestra una distribución irregular de cuatro reguladores de la transcripción.

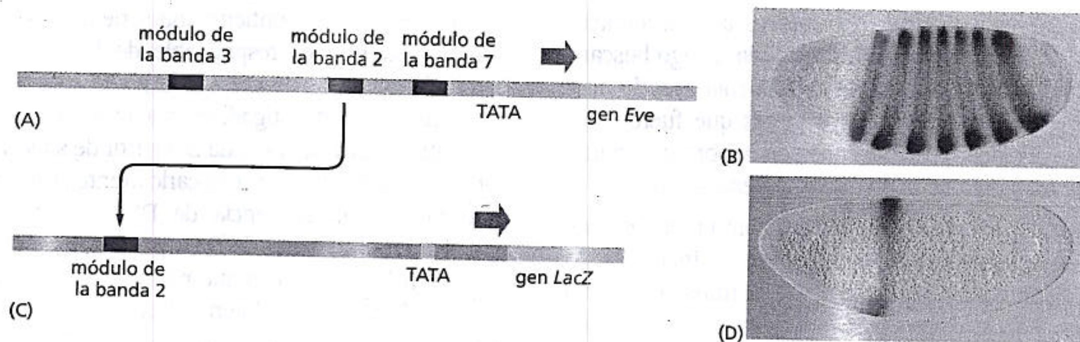


Figura 8-15. Un gen indicador revela la construcción modular de la región reguladora del gen *Eve*. (A) El gen *Eve* contiene secuencias reguladoras que dirigen la producción de proteína Eve en bandas a lo largo del embrión. (B) Los teñidos con anticuerpos para la proteína Eve muestran las siete bandas características de *Eve*. (C) En este experimento, se elimina un fragmento de 480 nucleótidos de la región reguladora *Eve* (módulo de la banda 2 de A) y se inserta corriente arriba del gen *LacZ* de *E. coli*, que codifica la enzima β–galactosidasa (véase Fig. 8-9). (D) Cuando esta construcción de DNA que contiene una única región reguladora se reintroduce en el genoma de un embrión de *Drosophila*, el embrión resultante expresa β–galactosidasa precisamente en la posición de la segunda de las siete bandas de *Eve*. La actividad enzimática se ensaya mediante la adición de X-gal, un azúcar modificado que cuando es escindido por la galactosidasa genera un producto azul insoluble. (B y D, cortesía de Stephen Small y Michael Levine).

varían a través del embrión (véase Fig. 8-14), y los patrones determinan cuáles de estas proteínas se unen al módulo de la banda 2 en cada posición a lo largo del embrión. La combinación de proteínas unidas, entonces, le "dicen" al núcleo apropiado que exprese *Eve*, y se forma la banda 2.

Se cree que el otro módulo regulatorio de banda funciona siguiendo líneas similares; cada módulo lee la información posicional proporcionada por algunas combinaciones únicas de reguladores de la transcripción y expresa *Eve* sobre la base de esta información. La región de control génico entero de *Eve* es una sucesión de alrededor de 20.000 pares de nucleótidos de DNA que unen más de 20 reguladores de la transcripción, incluidas las cuatro mencionadas. De este modo, una región de control de gran tamaño y completa se constituye a partir de una serie de pequeños módulos, cada uno consiste en una disposición única de secuencias cortas de DNA reconocidas por reguladores de la transcripción específicos. De esta forma, un sólo gen puede responder a un enorme número de señales combinatorias. *Eve* en sí mismo es un regulador de la transcripción y, en combinación con muchas otras proteínas reguladoras, controla procesos fundamentales en etapas más tardías del desarrollo. Esta organización comienza a explicar cómo el desarrollo de un organismo complejo puede instrumentarse por la aplicación repetida de pocos principios básicos.

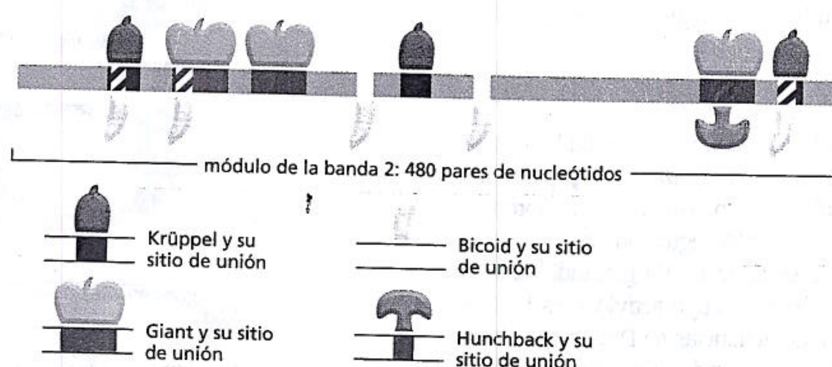


Figura 8-16. El módulo regulador de la banda 2 de *Eve* contiene sitios de unión para cuatro reguladores de la transcripción diferentes. Los cuatro reguladores son responsables de la expresión adecuada de *Eve* en la banda 2. Las moscas que son deficientes en los dos activadores, Bicoid y Hunchback, fracasan en la formación eficiente de la banda 2; en las moscas deficientes ya sea en cualquiera de los dos represores, Giant o Krüppel, la banda 2 se expande y cubre una región anormalmente amplia del embrión. Como se indica en la parte superior del diagrama, en algunos casos los sitios de unión para los reguladores de la transcripción se solapan y las proteínas compiten por la unión al DNA. Por ejemplo, la unión de Bicoid y Krüppel al sitio alejado hacia la derecha se cree que es mutuamente excluyente.

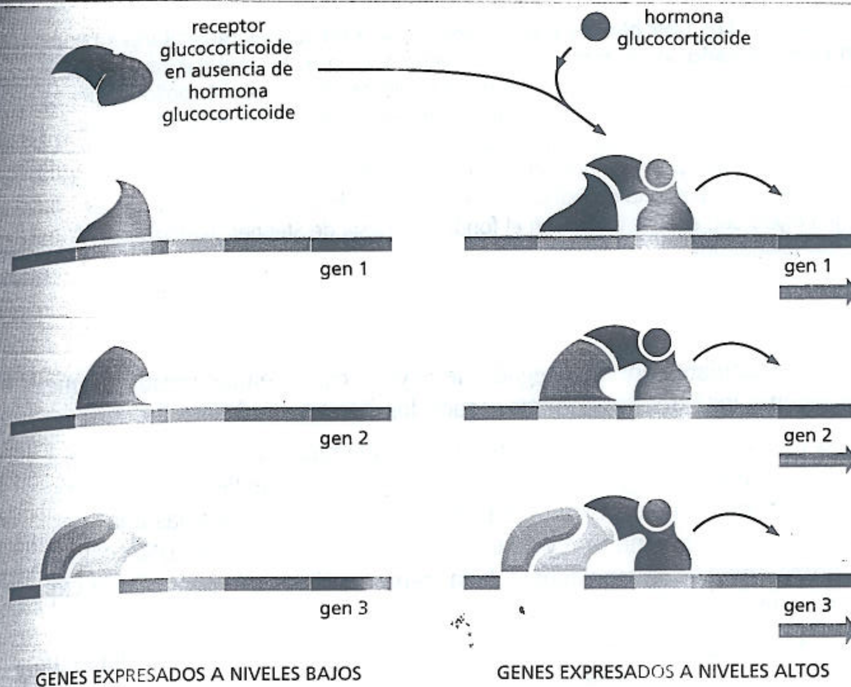


Figura 8-17. Un solo regulador puede coordinar la expresión de muchos genes diferentes. Se ilustra la acción del receptor de glucocorticoides. A la izquierda se muestran una serie de genes, cada uno tiene varias proteínas activadoras génicas unidas a su región reguladora. Sin embargo, estas proteínas unidas no son suficientes por sí mismas para activar la transcripción en forma eficiente. A la derecha se observa el efecto de agregar un regulador de la transcripción adicional –el receptor de glucocorticoides en un complejo con la hormona glucocorticoide– que puede unirse a las secuencias reguladoras de cada gen. El receptor de glucocorticoide completa la combinación de reguladores de la transcripción necesarios para la iniciación eficiente de la transcripción, y los genes ahora se activan en conjunto.

El contról combinatorio puede crear diferentes tipos celulares

La capacidad para activar o reprimir muchos genes diferentes con una sola proteína es útil en la regulación diaria de la función celular. Pero también representa uno de los médios por el cual las células eucariontes se diferencian en determinados tipos celulares durante el desarrollo embrionario.

Un ejemplo destacado del efecto de un único regulador de la transcripción sobre la diferenciación proviene de los estudios del desarrollo de las células musculares. Una célula de músculo esquelético de mamífero constituye un tipo celular muy distintivo. Se trata de una célula muy grande que se forma por la fusión de muchas células musculares precursoras denominadas *mioblastos*. La célula muscular madura se distingue de otras por la producción de una gran cantidad de proteínas particulares, como la actina y la miosina, que forman el aparato contráctil (descrito en el capítulo 17), así como por proteínas receptoras y canales iónicos en las membranas celulares que torna a la célula muscular sensible al estímulo nervioso. Los genes que codifican estas proteínas específicas del músculo se activan en forma coordinada cuando el mioblasto comienza a fusionarse. En los estudios de células musculares en diferenciación en cultivos se identificaron reguladores de la transcripción clave, expresados solamente en las células musculares potenciales, que coordinan la expresión génica y que, por lo tanto, son fundamentales para la diferenciación de la célula muscular. Estos reguladores activan la transcripción de los genes que codifican proteínas específicas del músculo mediante la unión a secuencias de DNA específicas presentes en sus regiones reguladoras.

Los reguladores de la transcripción pueden convertir a las células no musculares en mioblastos mediante la activación de cambios en la expresión génica típica de las células musculares en diferenciación. Cuando uno de estos reguladores, MyoD, se expresa de manera artificial en fibroblastos cultivados a partir del tejido conectivo de la piel, los fibroblastos comienzan a comportarse como mioblastos y se fusionan formando células musculares. En la figura 8-18 se ilustra el efecto drástico de la expresión del gen *MyoD* en los fibroblastos. Parece ser que los fibroblastos, que derivan de la misma clase amplia de células embrionarias que las células musculares, ya habrían acumulado muchos de los reguladores de la transcripción necesarios para el control combinatorio de los genes específicos de músculo, y el agregado de MyoD completa la combinación única que dirige a las células a convertirse en musculares. Algunos otros tipos celulares no pueden transformarse en



Figura 8-18. Los fibroblastos pueden convertirse en células musculares por un solo regulador de la transcripción. Como se muestra en esta microfotografía por inmunofluorescencia, los fibroblastos de la piel de un embrión de pollo se convirtieron en células musculares mediante la expresión inducida experimentalmente del gen *MyoD*. Los fibroblastos que expresaron el gen *MyoD* se han fusionado formando células alargadas de tipo muscular, que se tiñen de *verde* con un anticuerpo que detecta una proteína específica de músculo. Los fibroblastos que no expresan el gen *MyoD* son apenas visibles en el fondo. (Cortesía de Stephen Tapscott y Harold Weintraub).

células musculares por el agregado de MyoD; estas células presumiblemente no reunieron a los otros reguladores requeridos durante su desarrollo.

En la figura 8-19 se representa en forma esquemática el modo en que la acumulación de diferentes reguladores de la transcripción puede llevar a la generación de distintos tipos celulares. Esta figura también ilustra cómo, gracias a las posibilidades del control combinatorio y a las secuencias reguladoras del DNA compartidas, un grupo limitado de reguladores de la transcripción puede controlar la expresión de un número mucho mayor de genes.

La conversión de un tipo celular (fibroblasto) en otro (músculo) mediante un solo regulador de la transcripción enfatiza uno de los principios más importantes examinados en este capítulo: las diferencias profundas entre los tipos celulares, como el tamaño, la forma y la función, son el resultado de las diferencias en la expresión génica.

Los patrones estables de expresión génica pueden transmitirse a las células hijas

Como se analizó al principio de este capítulo, una vez que una célula en un organismo multicelular se ha diferenciado en un tipo de célula particular, en general

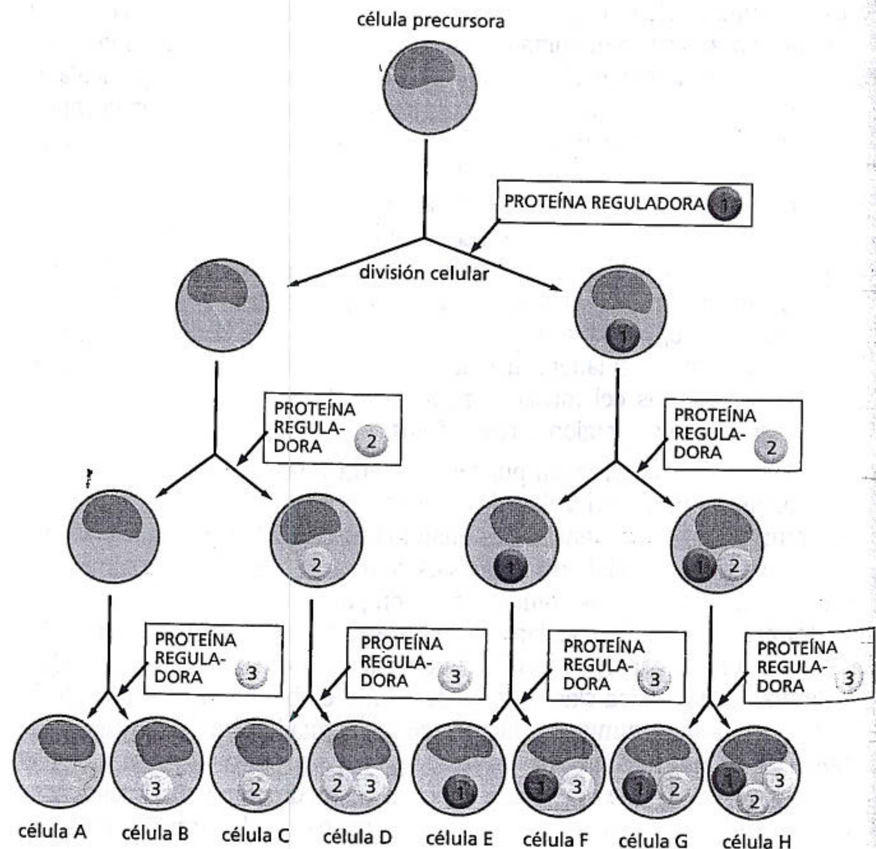


Figura 8-19. Las combinaciones de unos pocos reguladores de la transcripción pueden generar muchos tipos celulares diferentes durante el desarrollo. En este esquema simple se toma una "decisión" para generar un nuevo regulador (ilustrado como un *círculo numerado*) después de cada división celular. La repetición de esta regla simple permite que los ocho tipos celulares (A hasta H) se formen utilizando sólo tres reguladores distintos. Cada uno de estos tipos celulares hipotéticos podría luego expresar diferentes genes, como es impuesto por la combinación de los reguladores de la transcripción presentes en su interior.

permanecerá diferenciada, y todas las células de la progenie serán del mismo tipo celular. Algunas células muy especializadas nunca vuelven a dividirse después de que se diferenciaron, como es el caso de las células musculares esqueléticas y de las neuronas. Pero muchas otras células diferenciadas, como los fibroblastos, las células del músculo liso y las células hepáticas (hepatocitos), se dividen muchas veces durante la vida del individuo. Cuando todos estos tipos celulares se dividen dan origen solamente a células iguales a sí mismas: el músculo liso no da origen a células hepáticas, ni las células hepáticas dan origen a fibroblastos.

Esta preservación de la identidad celular significa que los cambios en la expresión génica que dan lugar a las células diferenciadas deben ser recordados y transmitidos a las células hijas en las divisiones celulares. Por ejemplo, en las células indicadas en la figura 8-20, la producción de cada regulador de la transcripción una vez que se inició, tiene que ser perpetuada en las células hijas de cada división celular. ¿Cómo puede realizarse este proceso?

Las células tienen varios modos de asegurar que las células hijas "recuerden" a qué tipo pertenecen. Uno de los más simples es mediante un **circuito de retroalimentación positiva**, donde un regulador de la transcripción clave activa la transcripción de su propio gen además de otros genes específicos del tipo celular (Fig. 8-20). Por ejemplo, la proteína MyoD funciona a modo de circuito de retroalimentación positiva. Otra forma de mantener el tipo celular es por medio de la transmisión fiel de una estructura de cromatina condensada de la célula parental a la célula hija. En la figura 5-30 se mostró un ejemplo, donde el cromosoma X está inactivo a lo largo de muchas generaciones celulares.

Una tercera forma en que las células pueden transmitir información acerca de la expresión génica a su progenie es a través de la **metilación del DNA**. En las células de vertebrados, la metilación del DNA se produce exclusivamente sobre bases de citosina (Fig. 8-21). Esta modificación covalente de las citocinas en general inactiva los genes mediante la atracción de proteínas que bloquean la expresión génica. Los patrones de metilación del DNA se pasan a las células de la progenie por la acción de una enzima que copia el patrón de metilación sobre la cadena de DNA parental a la cadena de DNA hija inmediatamente después de la replicación (Fig. 8-22). Debido a que cada uno de estos mecanismos, el circuito de retroalimentación positiva, ciertas formas de cromatina condensada y la metilación del DNA transmiten la información desde la célula parental a la hija sin alterar la secuencia nucleotídica del DNA, se los considera formas de *herencia epigenética* (véase la p. 192).

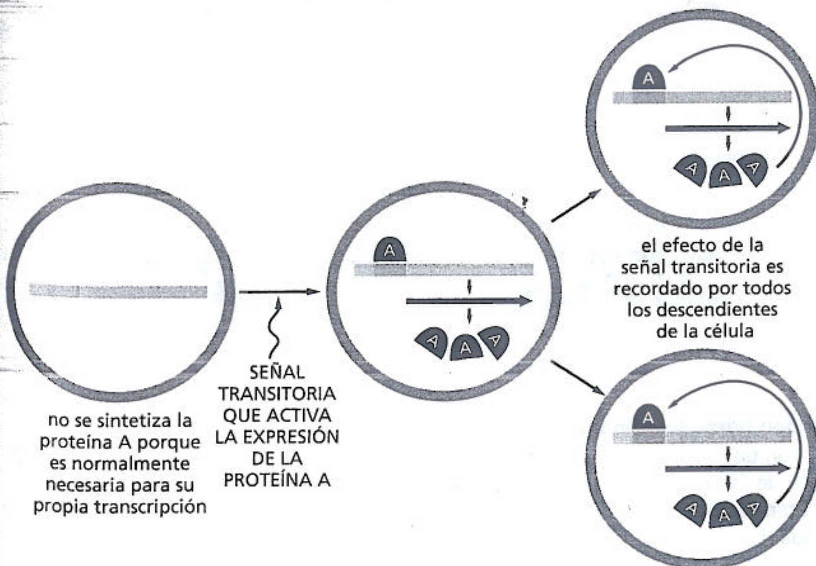


Figura 8-20 Un circuito de retroalimentación positiva puede crear memoria celular. La proteína A es un regulador de la transcripción que activa su propia transcripción. Todos los descendientes de la célula original "recordarán", por lo tanto, que la célula progenitora experimentó una señal transitoria que inició la producción de proteína.

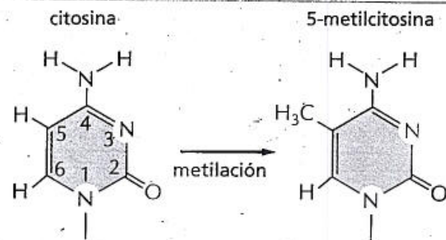


Figura 8-21. La formación de 5–metilcitosina se produce por metilación de una base de citosina en la doble hélice de DNA. En los vertebrados este acontecimiento esta confinado al nucleótido citosina (C) que se encuentra a continuación de una guanina (G).

La formación de un órgano entero puede ser desencadenada por un único regulador de la transcripción

Se ha visto que aunque el control combinatorio es la norma para los genes eucariontes, un regulador de la transcripción único puede ser decisivo en la activación o la represión de un grupo entero de genes, y se comentó cómo esto puede convertir un tipo celular en otro. Una extensión sorprendente de ese principio proviene de los estudios del desarrollo del ojo en *Drosophila*, ratones y seres humanos. En este caso, un único regulador de la transcripción (denominado Ey en las moscas y Pax–6 en vertebrados) es crítico para el desarrollo del ojo. Cuando se expresa en el ciclo celular apropiado, Ey puede activar la formación, no de un tipo celular, sino de un órgano entero –el ojo– compuesto por diferentes tipos de células organizadas en forma apropiada en el espacio tridimensional.

La mejor evidencia de la acción de Ey proviene de experimentos en moscas de la fruta en los que el gen *ey* se expresa artificialmente en el desarrollo temprano en las células que, en condiciones normales, formarán las patas. Esta expresión anormal del gen lleva a que los ojos se desarrollen en la parte media de las patas (Fig. 8-23). El ojo de *Drosophila* está constituido por miles de células, y la forma en que la proteína Ey coordina la especificación de cada tipo celular en el ojo es un tema muy estudiado en biología del desarrollo. Aquí destacaremos simplemente que Ey codifica reguladores de la transcripción adicionalesque, a su vez, controlan la expresión de otros genes mediante la unión a secuencias de DNA en sus regiones reguladoras. Algunos de estos reguladores actúan sobre el mismo *ey* creando un circuito de retroalimentación positiva que asegura la producción continua de la proteína Ey. De este modo, la acción de un solo regulador puede producir una cascada de activadores de reguladores cuyas acciones combinadas resultan en la formación de un grupo organizado de muchos tipos celulares diferentes. Es posible imaginar cómo, mediante repetidas aplicaciones de este principio, se forma un organismo complejo parte por parte.

CONTROLES POSTRANSCRIPCIÓN

Se ha descrito que los reguladores de la transcripción controlan la expresión génica mediante la activación o inhibición de la iniciación de la transcripción. La gran

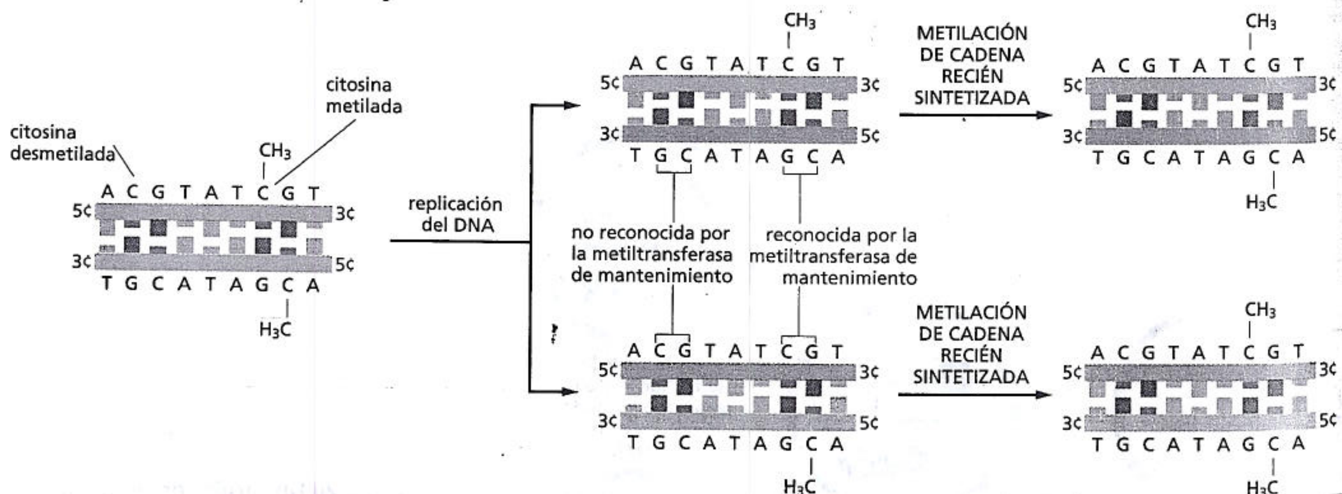


Figura 8–22. Los patrones de metilación del DNA pueden heredarse fielmente. Una enzima que se denomina metiltransferasa de mantenimiento garantiza que una vez que se estableció un patrón de metilación, el mismo sea heredado a su DNA progenie. Inmediatamente después de la replicación, cada hélice hija contiene una cadena de DNA metilada, heredada de la hélice parental, y una sin metilar, la cadena recién sintetizada. La metiltransferasa de mantenimiento interactúa con estas hélices híbridas, donde se metila sólo aquellas secuencias CG que están apareadas con una secuencia CG que ya está metilada. En el DNA de los vertebrados, una porción grande de las citosinas en las secuencias CG se encuentra metilada.

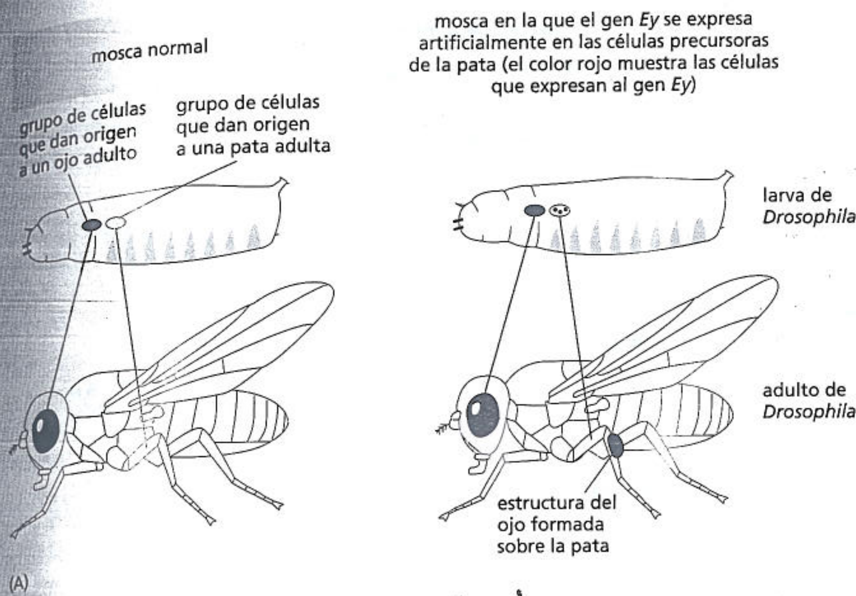


Figura 8-23. La expresión del gen *ey* de *Drosophila* en las células precursoras de la pata desencadena en ésta el desarrollo de un ojo. (A) Esquemas simplificados que muestran el resultado cuando una larva de la mosca de la fruta contiene el gen *ey* expresado normalmente *(izquierda)* o un gen *ey* que se expresa en forma adicional en las células que darán origen a la pata *(derecha)*. (B) Fotografía de una pata anormal que tiene un ojo en un lugar anómalo. (B, cortesía de Walter Gehring).

mayoría de los genes en todos los organismos se regulan de esta forma. Pero más adelante en la vía del DNA a la proteína existen otros puntos de control, que le otorgan a las células una oportunidad adicional de controlar la cantidad de producto génico que se sintetiza. Estos **controles postranscripción**, que funcionan después de que la RNA polimerasa se ha unido al promotor de un gen y comienza a sintetizar RNA, son cruciales para la regulación de muchos genes.

En el capítulo 7, se describió uno de los tipos de control postranscripción: el corte y empalme alternativo, que permite que se sinteticen diferentes formas de una proteína de diferentes tejidos (Fig. 7-21). Aquí se analizarán algunos ejemplos de las formas en que las células pueden manipular la expresión génica después de que ha comenzado la transcripción.

Los ribointerruptores proporcionan una solución económica para la regulación génica

Los mecanismos que controlan la expresión génica que se han descrito hasta el momento involucran la participación de una proteína reguladora. Pero los científicos han descubierto recientemente que una cantidad de mRNA puede regular su propia transcripción y traducción. Estos mRNA autorreguladores contienen **ribointerruptores** (*riboswitches*): secuencias cortas de RNA que cambian su conformación cuando se unen a moléculas pequeñas como los metabolitos. Se descubrieron muchos ribointerruptores, y cada uno reconoce una molécula pequeña específica. El cambio de conformación que es conducido por la unión de esa molécula puede regular la expresión génica (**Fig. 8-24**). Este modo de regulación génica es particularmente común en las bacterias, donde los ribointerruptores censan los metabolitos clave en la célula y de acuerdo con esto ajustan la expresión génica.

Los ribointerruptores son quizás los ejemplos más económicos de control génico, debido a que saltean por completo la necesidad de proteínas reguladoras. El hecho de que las secuencias cortas de RNA puedan formar tales dispositivos de control génico ofrece evidencia adicional de que, antes de que surgieran las células modernas, un mundo dirigido por los RNA pudo haber alcanzado un nivel alto de sofisticación (véanse pp. 261–264).

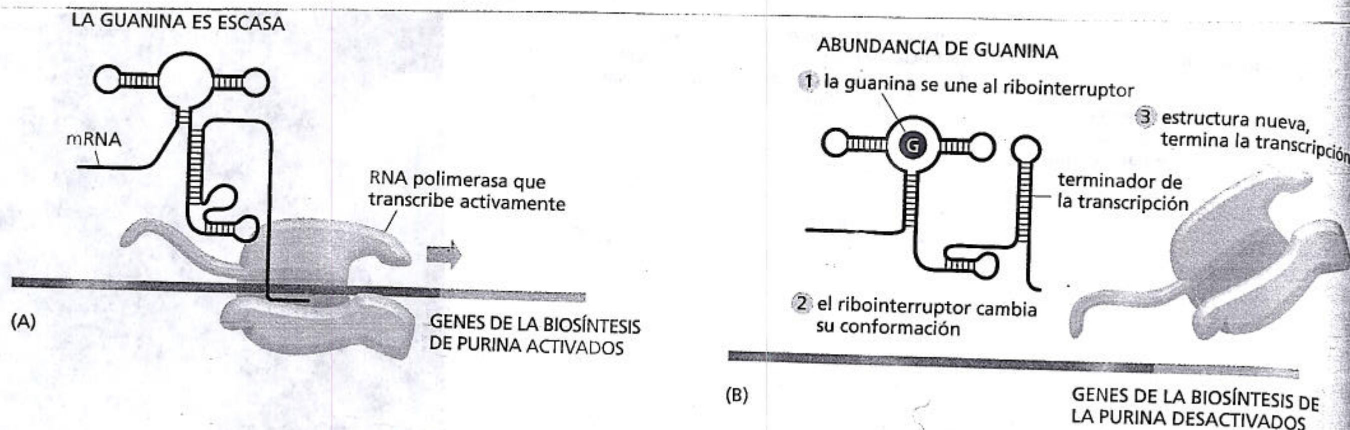


Figura 8-24. Un ribointerruptor controla los genes de la biosíntesis de la purina en las bacterias. (A) Cuando la guanina escasea, el ribointerruptor adopta una estructura que permite el alargamiento por parte de la RNA polimerasa, que ya ha iniciado la transcripción, lo que permite continuar transcribiendo los genes de la biosíntesis de la purina. Por lo tanto, se expresan las enzimas necesarias para la síntesis de la guanina. (B) Cuando la guanina es abundante, se une al ribointerruptor, y le provoca un cambio de la conformación. La nueva conformación incluye una estructura bicatenaria *(rojo)* que fuerza a la polimerasa a terminar la transcripción antes de llegar a los genes biosintéticos de la purina. En ausencia de guanina, se bloquea la formación de la estructura bicatenaria debido a que una de las cadenas de RNA que la forma se aparea con una región diferente del ribointerruptor (A). En este ejemplo, el ribointerruptor impide que se complete un mRNA. Otros ribointerruptores controlan la traducción de la molécula una vez que se han sintetizado los mRNA. (Adaptado de M. Mandal y R.R. Breaker, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5:451–63, 2004. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.)

Las regiones no traducidas de los mRNA pueden controlar su traducción

Una vez que un mRNA ha sido sintetizado, una de las de vías más comunes de regulación acerca de cuánto producto proteico se sintetiza es el control de la iniciación de la traducción. A pesar de que los detalles de la iniciación de la traducción difieren entre los eucariontes y las bacterias, ambos utilizan las mismas estrategias para la regulación de la expresión génica en este paso.

Los mRNA bacterianos contienen una secuencia de unión al ribosoma localizada unos pocos nucleótidos corriente arriba del codón AUG donde comienza la traducción. Esta secuencia de reconocimiento forma apareamiento de bases con el RNA en la subunidad ribosómica pequeña, y posiciona de manera correcta el codón de inicio AUG dentro del ribosoma. Debido a que esta interacción es necesaria para la traducción eficiente de la iniciación, proporciona un blanco ideal para el control de la traducción. Al bloquear o exponer la secuencia de reconocimiento al ribosoma, la bacteria puede inhibir o estimular la traducción de un mRNA (Fig. 8-25).

Los mRNA eucariontes poseen un 5' cap que contribuye a guiar al ribosoma hacia el primer AUG, el codón donde comienza la traducción (véase Fig. 7-35). En las células eucariontes, los represores pueden inhibir la iniciación de la traducción mediante la unión a secuencias de RNA específicas en la región 5' no traducida del mRNA y evitan que el ribosoma encuentre al primer AUG. Cuando las condiciones cambian, la célula puede inactivar al represor y, por lo tanto, aumentar la traducción del mRNA.

Los RNA regulatorios pequeños controlan la expresión de miles de genes de animales y plantas

Como se describió en el capítulo 7, los RNA realizan muchas tareas trascendentales. Además de actuar como portadores de información genética, cumplen funciones estructurales y catalíticas, en particular en la síntesis de proteína (véanse pp. 253–254). Además, notables descubrimientos recientes revelaron que los RNA no codificantes, aquellos que no dirigen la producción de un producto proteico, son más frecuentes que lo imaginado y cumplen funciones generalizadas e inesperadas en la regulación de la expresión génica.

Un tipo particularmente importante de RNA no codificante, que se encuentra en las plantas y los animales, se denomina microRNA (miRNA). Los seres humanos, por ejemplo, producen más de 400 miRNA diferentes, que parecen regular, al menos, un tercio de todos los genes que codifican proteínas. Estos RNAs cortos controlan la expresión génica mediante el apareamiento de bases con mRNA específicos. Esto controla su estabilidad y traducción.

A diferencia de otros RNA no codificantes, como los tRNA y los rRNA, el transcripto de miRNA precursor sufre un tipo especial de procesamiento que produce el miRNA maduro. Este miRNA luego es ensamblado con proteínas especializadas y

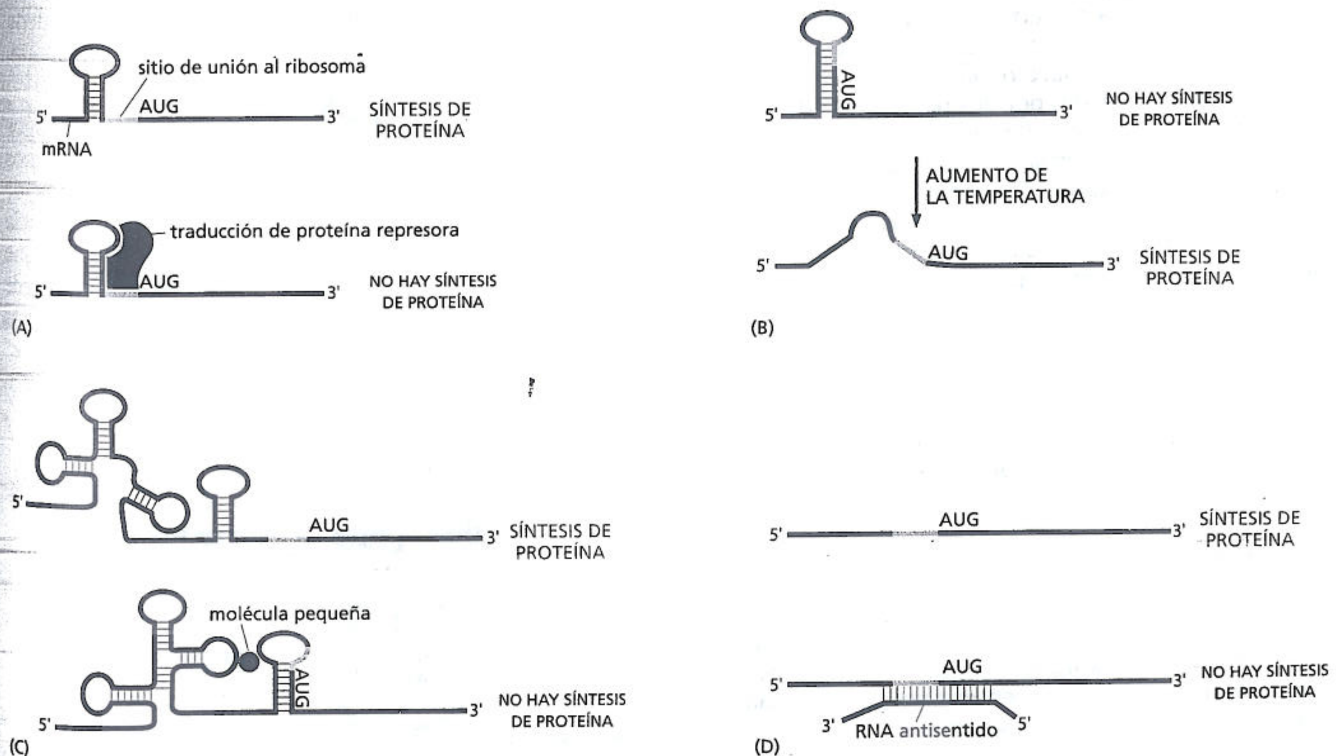
forma un *complejo silenciador inducido por RNA* (RISC). Los RISC patrullan el citoplasma, buscando mRNA que sean complementarios del miRNA que contienen (Fig. 8-26). Una vez que un mRNA blanco forma pares de bases con un miRNA, éste es destruido inmediatamente por una nucleasa presente dentro del RISC o su traducción es bloqueada y es entregado a una región del citoplasma donde otras nucleasas eventualmente lo degradan. Una vez que el RISC ha tomado el cuidado de una molécula de mRNA, es liberado y puede buscar moléculas de mRNA adicionales. Así, un miRNA único, como parte de un RISC, puede eliminar una molécula de mRNA después de otra, bloqueando de manera eficiente la producción de proteína que codifica el mRNA.

Dos características del miRNA los hacen especialmente útiles como reguladores de la expresión génica. En primer lugar, un único miRNA puede regular un conjunto completo de diferentes miRNA en tanto y en cuanto los mRNA contengan una secuencia común; estas secuencias suelen estar localizadas en sus regiones 3' y 5' sin traducir. En los seres humanos, algunos miRNA individuales controlan de esta forma cientos de mRNA diferentes. En segundo lugar, un gen que codifica un miRNA ocupa relativamente poco espacio en el genoma en comparación con un gen que codifica un regulador de la transcripción. Efectivamente, este pequeño tamaño es una razón de porqué los miRNA fueron descubiertos recientemente. Aunque en el presente se comienza a comprender el impacto total de los miRNA, es claro que representan una parte crucial de la célula en la regulación de la expresión de sus genes.

La interferencia por RNA destruye los RNA bicatenarios extraños

Algunas proteínas que procesan y empaquetan los miRNA también actúan como un mecanismo de defensa celular: ellos dirigen la destrucción de las moléculas de RNA "extrañas", específicamente las que son bicatenarias. Muchos virus y elementos genéticos transponibles producen RNA de cadena doble en algún momento en sus ciclos de vida. Este mecanismo de degradación de RNA blanco, denominado **interferencia por RNA (RNAi)**, contribuye a detener a estos invasores potencialmente peligrosos.

Figura 8-25. La expresión génica puede controlarse mediante la regulación de la iniciación de la traducción. (A) Las proteínas de unión a una secuencia específica de RNA pueden reprimir la traducción de mRNA específicos evitando que el ribosoma se una a la secuencia de reconocimiento del ribosoma *(anaranjado)* que se encuentra al inicio del gen que codifica la proteína bacteriana. Algunas de las proteínas ribosómicas inhiben la traducción de su mRNA propio mediante este mecanismo. (B) Un mRNA del patógeno *Listeria monocytogenes* contiene una secuencia de RNA "termosensora" que controla la traducción de un grupo de genes virulentos. A la temperatura cálida a la que se encuentra la bacteria dentro del hospedador humano, la secuencia termosensora se desnaturaliza y se expresan los genes virulentos. (C) La unión de una molécula pequeña a un ribointerruptor causa un reordenamiento estructural del RNA, secuestrando la secuencia de reconocimiento del ribosoma y bloqueando la iniciación de la traducción. (D) Un RNA "antisentido" complementario producido por otro gen forma apareamientos de bases con un mRNA específico y bloquea su traducción. Aunque estos ejemplos de control de la traducción son de bacterias, muchos de los mismos principios funcionan en los eucariontes.



- Las células tienen mecanismos de defensas para destruir RNA bicatenarios "extraños", muchos de los cuales son producidos por virus. Los científicos pueden tomar ventajas de este mecanismo, denominado interferencia por RNA, para inactivar genes de interés simplemente inyectando células con RNA bicatenarios que son blancos de los mRNA producidos por esos genes.

PALABRAS CLAVE

activador
circuito de retroalimentación positiva
control combinatorio
control postranscripción
diferenciación
expresión génica
gen indicador
herencia epigenética
interferencia por RNA (RNAi)
metilación del DNA
microRNA (miRNA)
regulador de la transcripción
represor
ribointerruptor
RNA de interferencia pequeño (siRNA)
secuencia de DNA reguladora

PREGUNTAS

PREGUNTA 8-4

Un virus que crece en bacterias –los virus bacterianos se denominan bacteriófagos– pueden replicarse de dos maneras. En el estado de profago, el DNA vírico se inserta en el cromosoma bacteriano y es copiado junto con el genoma bacteriano cada vez que la célula se divide. En el estado lítico, el DNA viral es liberado del cromosoma bacteriano y replicado muchas veces en la célula. Este DNA vírico luego produce proteínas de la cubierta viral que junto con el DNA vírico replicado forma muchas partículas virales nuevas que rompen la célula bacteriana. Estas dos formas de crecimiento son controladas por dos reguladores de la transcripción, denominado cl ("c uno") y Cro, que son codificados por el virus. En el estado de profago, se expresa cl; en el estado lítico, se expresa Cro. Además de regular la expresión de otros genes, cl reprime al gen *Cro*, y Cro reprime al gen *cl* (Fig. P8-4). Cuando la bacteria contiene un fago en el estado de profago son irradiadas brevemente con luz UV, y la proteína cl se degrada.

A.¿Qué sucede a continuación?

B.¿El cambio en (A) se revertirá cuando se apague la luz UV?

C.¿Por qué podría haber evolucionado esta respuesta a la luz UV?

PREGUNTA 8-5

(Verdadero/falso) Cuando se inyecta el núcleo de una célula de zanahoria totalmente diferenciada en un óvulo de rana cuyo núcleo se ha extirpado, el núcleo donante es capaz de programar al óvulo receptor para producir una zanahoria normal. Explique su respuesta.

PREGUNTA 8-6

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. En las bacterias, pero no en eucariontes, la mayor parte de los mRNA codifican más de una proteína.

B. La mayoría de las proteínas de unión al DNA se unen al surco mayor de la doble hélice.

C. De los principales puntos de control en la expresión génica (transcripción, procesamiento del RNA, transporte de RNA, traducción y control de la actividad proteica) el inicio de la transcripción es uno de los más comunes.

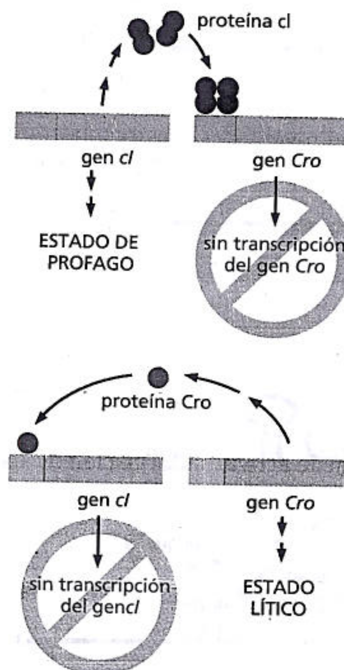


Figura P8-4.

D. Los átomos de cinc en las proteínas de unión al DNA que contienen dominios de dedos de cinc contribuyen a la especificidad de unión mediante interacciones con secuencias específicas, que forman con las bases.

PREGUNTA 8-7

Su tarea en el laboratorio del profesor Quasimodo es determinar lo lejos que puede ser desplazado un amplificador (un sitio de unión para una proteína activadora) del promotor del gen *straightspine* sin que deje de activar la transcripción. Usted varía en forma sistemática el número de pares de nucleótidos entre esos dos sitios y luego determina la cantidad de transcripción midiendo la producción del mRNA Straightspine. A primera vista, sus datos parecen confusos (Fig. P8-7). ¿Qué resultados esperaría de este experimento? ¿Puede salvar su reputación y explicárselos al profesor Quasimodo?

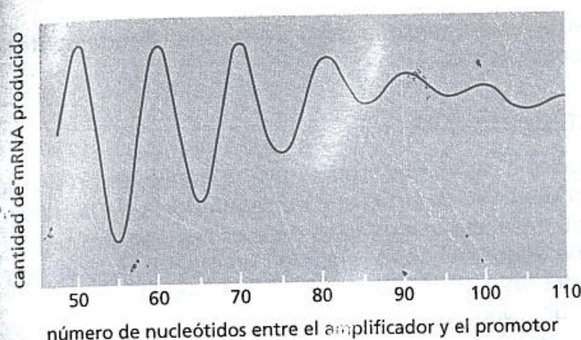


Figura P8-7.

PREGUNTA 8-8

Muchos reguladores de la transcripción forman dímeros de subunidades idénticas. ¿Por qué esto es ventajoso? Describa tres motivos estructurales que se utilizan con frecuencia para tomar contacto con el DNA. ¿Cuáles son las características particulares que les resultan favorables para este objetivo?

PREGUNTA 8-9

El represor λ se une como un dímero en sitios críticos sobre el genoma para reprimir a los genes líticos del virus. Esto es necesario para mantener al profago (integrado). Cada molécula del represor consiste en un dominio N-terminal de unión al DNA y un dominio C-terminal de dimerización (Fig. P8-9). Bajo inducción (p. ej., por irradiación con luz UV), se expresan los genes para el crecimiento lítico, se produce la progenie y la lisis de la célula bacteriana (véase la pregunta 8-4). La inducción se inicia con la escisión del λ represor en un sitio entre el dominio de unión al DNA y el dominio de dimerización, que causa la disociación del represor del DNA. En ausencia de un represor unido, la RNA polimerasa se une e inicia el crecimiento lítico. Como el número (concentración) de dominios de unión al DNA no cambia mediante la escisión del represor, ¿por qué supone que esta ruptura causa su disociación del DNA?

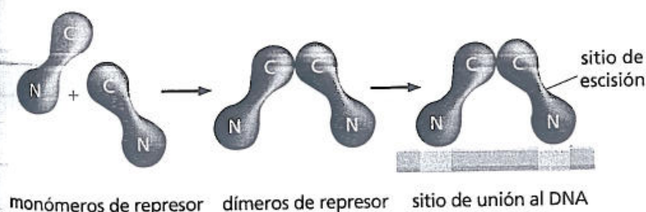


Figura P8-9.

PREGUNTA 8-10

Las enzimas para la biosíntesis de la arginina se localizan en varias posiciones alrededor del genoma de *E. coli*, y son reguladas de manera coordinada por un regulador de la transcripción codificado por el gen *ArgR*. La arginina modula la actividad de ArgR. Mediante la unión de la arginina, ArgR altera su conformación y cambia en forma notable su afinidad por las secuencias del DNA en los promotores de los genes de las enzimas biosintéticas de arginina. Puesto que la ArgR es una proteína represora, ¿esperaría que ArgR se uniese más o menos estrechamente a las secuencias reguladoras cuando la arginina es abundante? Si ArgR funcionara en su lugar como un gen activador, ¿esperaría que la unión de la arginina incrementara o disminuyera su afinidad por estas secuencias reguladoras? Explique sus respuestas.

PREGUNTA 8-11

Cuando se halló inicialmente que los amplificadores podían influir en la transcripción de miles de pares de nucleótidos desde los promotores que controlaban, se consideraron dos modelos para explicar esta acción a distancia. En el modelo de la "formación del asa de DNA", se propusieron interacciones directas entre las proteínas unidas a los amplificadores y a los promotores para estimular a la RNA polimerasa. En el modelo de "exploración" o de "sitio de entrada", se sugirió que la RNA polimerasa (u otro componente de la maquinaria de transcripción) se une a un amplificador y luego hace una búsqueda a lo largo del DNA hasta que alcanza al promotor. Se pusieron a prueba estos dos modelos utilizando un amplificador sobre un segmento de DNA y un gen, y el promotor de la β–globina sobre un segmento separado de DNA (Fig. P8-11). El gen de la β–globina no se expresó a partir de la mezcla de los segmentos. Sin embargo, cuando los dos segmentos de DNA de unieron mediante una proteína conectora, el gen de la β–globina se expresó. ¿Distingue este experimento entre el modelo de formación del asa de DNA y el modelo de exploración? Explique su respuesta.

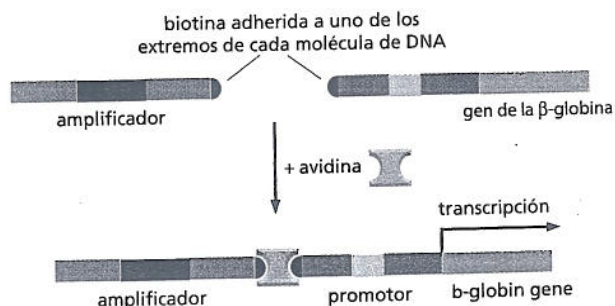


Figura P8-11.

PREGUNTA 8-12

Todas las células diferenciadas en un organismo contienen los mismos genes. (Entre las pocas excepciones a esta regla están las células del sistema inmunitario de los mamíferos, donde la formación de células especializadas se basa en reordenamientos limitados del genoma). Describa un experimento que confirme la primera afirmación de esta pregunta y explique por qué sucede esto.

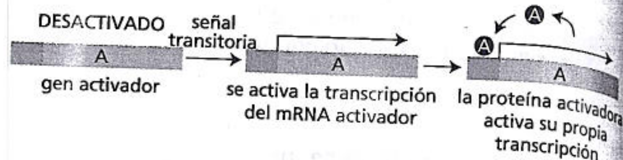
PREGUNTA 8-13

La figura 8-19 muestra un esquema simple en el que se utilizan tres reguladores de la transcripción durante el desarrollo que crean ocho tipos de células diferentes. ¿Cuántos tipos celulares podría usted crear utilizando las mismas reglas, con cuatro reguladores de la transcripción diferentes? Como se describe en el libro, MyoD es un regulador de la transcripción que por sí mismo es suficiente para inducir la expresión génica específica de músculo en los fibroblastos. ¿Cómo encaja esta observación en el esquema de la figura 8-19?

PREGUNTA 8-14

Imagine las dos situaciones que se muestran en la figura P8-14. En la célula I, una señal transitoria induce la síntesis de la proteína A, un gen activador que a su vez activa a muchos genes e incluso a sí mismo. En la célula II, una señal transitoria induce la síntesis de la proteína R, un gen represor que a su vez inhibe a muchos genes, incluida a sí misma. ¿En cuáles, si corresponde, de esas situaciones los descendientes de la célula original "recordarán" que esta célula experimentó la señal transitoria? Fundamente su razonamiento.

(A) CÉLULA I



(B) CÉLULA II

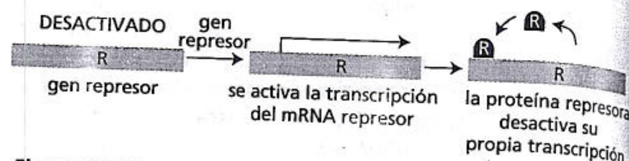


Figura P8-14.

PREGUNTA 8-15

Analice el siguiente argumento: "Si la expresión de cada gen depende de un grupo de reguladores de la transcripción, entonces la expresión de esos reguladores también debe depender de la expresión de otros reguladores, y su expresión debe depender incluso de otros reguladores, y así sucesivamente. Las células necesitarían de este modo un infinito número de genes, la mayor parte de los cuales codificarían reguladores de la transcripción." ¿Cómo hace la célula para lograrlo sin tener que realizar lo imposible?

CAPÍTULO NUEVE

9

Cómo evolucionan los genes y los genomas

No existen dos personas exactamente parecidas. Observe en cualquier agrupamiento de personas en una clase o en un autobús; cada individuo difiere en una gran cantidad de características heredables: el color de los ojos, la piel y el pelo, el peso, la talla, etc. (Fig. 9-1). Aunque todos somos miembros de la misma especie, claramente sus genomas no contienen exactamente la misma secuencia de nucleótidos.

Estas diferencias en las secuencias de nucleótidos entre un organismo y el siguiente proporcionan la materia prima sobre la que funciona la evolución. Esculpidos por presiones selectivas durante miles de millones de generaciones celulares desde el comienzo de la vida sobre la Tierra, estos cambios han originado la totalidad de la espectacular colección de formas de vida de la actualidad, desde las bacterias hasta las ballenas. La diversidad de especies, por consiguiente, depende de un delicado equilibrio entre la precisión conservadora de la replicación del genoma, que le permite a las progenies heredar las virtudes de sus progenitores y los errores de la replicación y el mantenimiento del genoma que le permiten a los organismos adquirir características nuevas y capacidades nuevas. Si este equilibrio se hubiera alcanzado de otra forma, la historia global de la vida sobre la Tierra sería diferente.

En este capítulo se explicará el modo en que los genes y los genomas cambian a lo largo del tiempo. Se examinarán los mecanismos moleculares que producen los cambios genéticos y se considerará la manera de descifrar la información en los genomas de la actualidad que generan un registro histórico de los procesos evolutivos que los han modelado. Se finalizará el capítulo con una mirada más cercana del genoma humano para ver lo que nuestra propia secuencia de DNA nos dice sobre quiénes somos y de dónde venimos.



Figura 9-1. Un grupo de niños ingleses en edad escolar refleja el concepto de variación. Las pequeñas diferencias en la secuencia de nucleótidos explican las diferencias en la apariencia entre un individuo y el siguiente. (Cortesía de Fiona Pragoff, Wellcome Images).

GENERACIÓN DE LA VARIACIÓN GENÉTICA

La evolución trabaja sobre las secuencias de DNA que cada organismo hereda de sus ancestros: no existen mecanismos naturales que generen largos fragmentos de secuencias nucleotídicas completamente nuevas. En este sentido, ningún gen –o genoma– jamás es enteramente nuevo. La evolución es más un reparador que un inventor: la asombrosa diversidad en forma y función que vemos en los organismos vivientes es en su totalidad resultado de variaciones en temas preexistentes.

A medida que las variaciones se apilan durante millones de generaciones, el efecto acumulativo puede ser un cambio radical. Diversos tipos básicos de cambios genéticos son críticos en la evolución (Fig. 9-2):

- *Mutación dentro de un gen*: un gen existente puede modificarse por mutaciones que cambian un solo nucleótido o que eliminan o duplican uno o más nucleótidos en su secuencia de DNA. Estas mutaciones pueden alterar la actividad o estabilidad de una proteína, cambiar su localización en la célula, o afectar sus interacciones con otras proteínas.
- *Mutación dentro del DNA regulador de un gen*: cuándo y dónde se expresa un gen puede ser afectado por mutaciones en los tramos de secuencias de DNA que regulan su actividad (descriptos en el capítulo 8). Por ejemplo, los seres humanos y los peces tienen una cantidad sorprendentemente grande de genes en común, pero cambios en la regulación de estos genes compartidos son la base de la mayor parte de las diferencias profundas entre estas dos especies.

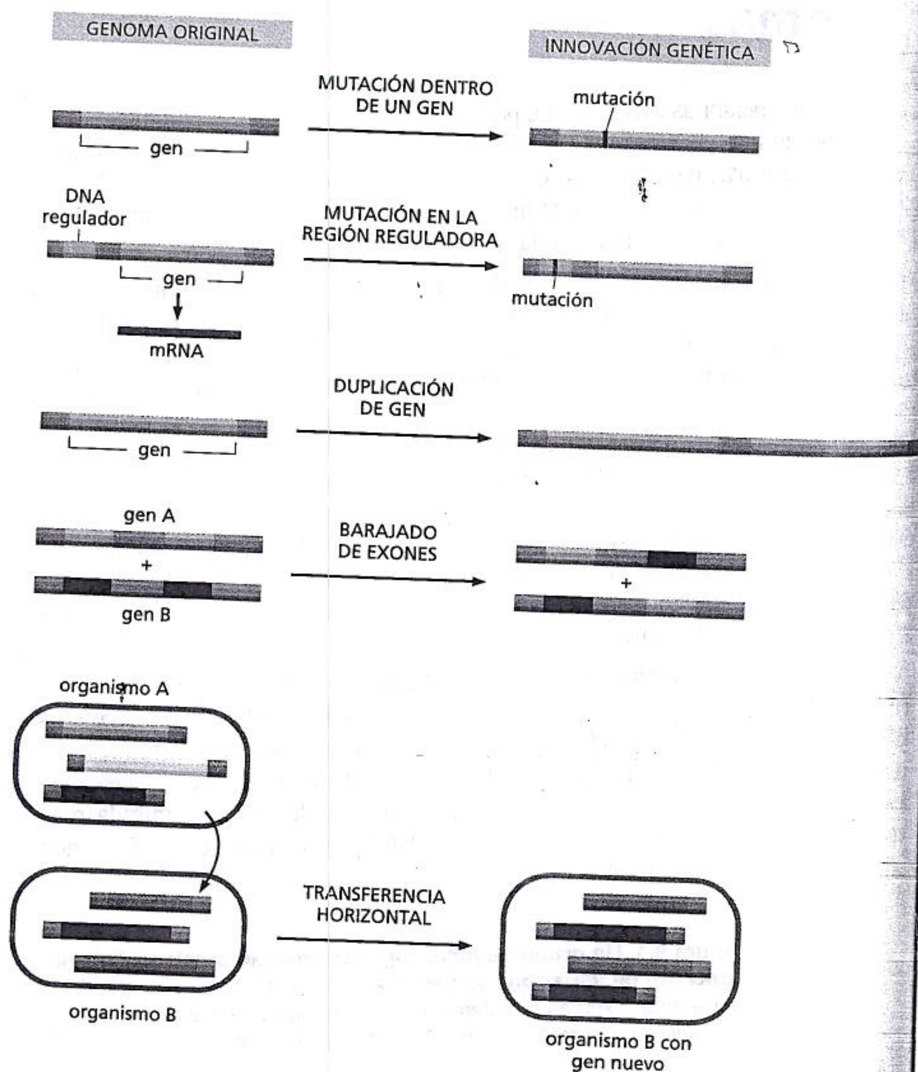


Figura 9-2. Los genes y genomas pueden ser alterados por diversos mecanismos. Pequeñas mutaciones, duplicaciones, deleciones, reordenamientos e incluso la infusión de material genético fresco. Todo contribuye a la evolución del genoma.

- *Duplicación génica*: un gen existente, un gran segmento de DNA, o incluso un genoma entero, pueden duplicarse y crear un grupo de genes estrechamente relacionados dentro de una única célula. Cuando esta célula y su progenie se dividen, el gen original y su duplicado pueden adquirir mutaciones adicionales y asumir funciones y patrones de expresión diferentes entre sí y de las de los genes ancestrales.
- *Barajado o reordenamiento (shuffling) de exones*: dos o más genes existentes pueden romperse y volver a unirse produciendo un gen híbrido que contiene segmentos de DNA que originalmente pertenecían a genes separados. Debido a que la ruptura y reunión se produce, a menudo, dentro de las secuencias de un intrón en las células eucariontes, el proceso no tiene que ser preciso para dar como resultado un gen funcional.
- *Transferencia génica horizontal (intercelular)*: un fragmento de DNA puede transferirse a partir del genoma de una célula al de otra; incluso de otra especie. Este proceso, poco frecuente entre los eucariontes pero común entre los procariontes, difiere de la habitual transferencia "vertical" de información genética desde el progenitor a la progenie.

PREGUNTA 9-1
En este capítulo se argumenta que la variabilidad genética es beneficiosa para una especie porque potencia su capacidad para adaptarse a las condiciones cambiantes. ¿Por qué, entonces, una célula hace todo lo posible para garantizar la fidelidad de la replicación del DNA?

Cada una de estas formas de variación genética –desde las mutaciones simples que se producen dentro de un gen hasta las duplicaciones más extensas, las deleciones, los reordenamientos y el agregado que se produce dentro de un genoma– han desempeñado, y continúan haciéndolo, un papel importante en la evolución de los organismos modernos. En esta sección se explicarán estos mecanismos básicos de cambio genético con mayor detalle y se considerarán sus consecuencias para la evolución del genoma. Pero primero, se hará una pausa para considerar las complicaciones del sexo, el mecanismo que muchos organismos utilizan para pasar información genética a las futuras generaciones.

En los organismos de reproducción sexual, sólo pasan a la progenie los cambios en la línea germinal

Para las bacterias y otros organismos unicelulares que se reproducen asexualmente, la herencia de la información genética es bastante inequívoca. Cada individuo copia su genoma y luego lo dividen en dos, dando origen a dos hijas. Estos organismos tienen un árbol familiar que simplemente es un esquema ramificado de divisiones celulares que conectan de manera directa cada individuo a su progenie y a sus ancestros.

Para un organismo multicelular que se reproduce sexualmente, las conexiones familiares son mucho más complejas. En principio, el sexo mezcla y hace coincidir los genomas de dos individuos generando descendencia que es genéticamente distinta de sus progenitores. También hace uso de los embajadores genéticos, células que llevan una copia del genoma de un individuo a la siguiente generación. Estas células de reproducción especializadas, las **células germinales** o gametos, se reúnen durante la fecundación que da origen a un individuo nuevo (como se describe en el capítulo 19). Las otras células del cuerpo, las **células somáticas**, se encuentran destinadas a morir sin dejar sus propios descendientes (Fig. 9-3). El linaje celular que da origen a las células de la línea germinal se denomina **línea germinal**, y es a través de una serie de divisiones celulares de la línea germinal que cada organismo sigue el rastro hacia atrás hasta sus ancestros y, en última instancia, hacia los ancestros de todos nosotros, las primeras células que existieron, en el origen de la vida hace más de 3.500 millones de años. En este sentido, las células somáticas existen sólo para ayudar a sobrevivir a la línea germinal y propagarla.

Todo esto significa que una mutación es pasada hacia la siguiente generación sólo si ocurre en una célula de la línea germinal. Una mutación que se produce en una célula somática, aunque podría tener consecuencias desafortunadas para el individuo en el cual ocurra (causando cáncer, por ejemplo), no es transmitida hacia la descendencia del organismo (Fig. 9-4). Por lo tanto, en el rastreo de los cambios genéticos que se acumulan durante la evolución, debemos concentrarnos en los acontecimientos que se producen en la línea germinal.

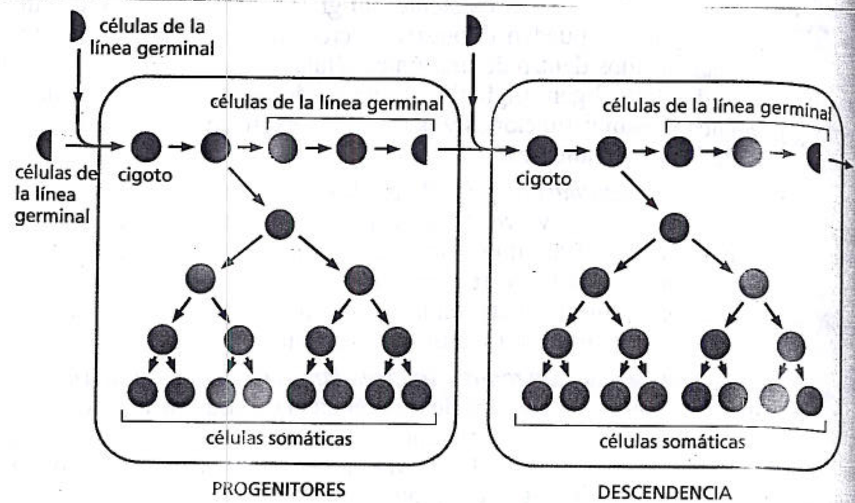


Figura 9-3. Las células de la línea germinal y las células somáticas realizan funciones diferentes. En los organismos que se reproducen sexualmente la información genética se propaga a la generación siguiente por células especializadas que se denominan células de la línea germinal *(rojo)*. Éstas dan origen a las células reproductivas, células de la línea germinal (*semicírculos rojos*). Las células de la línea germinal se muestran como semicírculos debido a que contienen solo la mitad del complemento genético de las otras células en el cuerpo (círculos completos). Cuando dos células de la línea germinal se reúnen durante la fecundación, forman un óvulo fecundado o cigoto (púrpura) que una vez más contiene un grupo completo de cromosomas. Esto da origen a más células de la línea germinal y a las células somáticas *(azul)*, que forman el cuerpo del organismo, pero no contribuyen a su DNA en la generación siguiente.

Aunque la reproducción sexual involucra la mezcla de genomas, que influyen en cómo se propagan las variaciones genéticas, muchos de los mecanismos básicos que generan el cambio genético son los mismos tanto para los organismos que se reproducen sexualmente como asexualmente, como se describe a continuación.

Las mutaciones puntuales son causadas por fallas de los mecanismos normales de copia y mantenimiento del DNA

A pesar de los mecanismos elaborados que utilizan las células para mantener sus secuencias de DNA, cada par de nucleótidos en el genoma de un organismo corre cierto riesgo de cambiar cada vez que la célula se divide. Los cambios que afectan a sólo un par de nucleótidos se denominan **mutaciones puntuales**. Éstas se originan típicamente a partir de pequeños errores en la replicación o reparación del DNA (comentado en capítulo 6, pp. 211–217).

La tasa de mutación de nucleótidos se ha determinado directamente en experimentos con bacterias como *E. coli*, un residente del intestino humano. En condiciones de laboratorio, las bacterias *E. coli* se dividen aproximadamente una vez cada 20–25 minutos; en menos de un día, una sola *E. coli* puede producir más descendientes que los seres humanos que hay sobre la Tierra, suficientes para que se produzca casi cualquier mutación puntual concebible. Un cultivo que contenga 10^9 células de *E. coli* de este modo alberga millones de células mutantes cuyos genomas difieren de la célula antecesora. Algunas de estas mutaciones confieren una ventaja selectiva sobre células individuales; resistencia a un veneno, por ejemplo, o la capacidad para sobrevivir cuando son privadas del nutriente están-

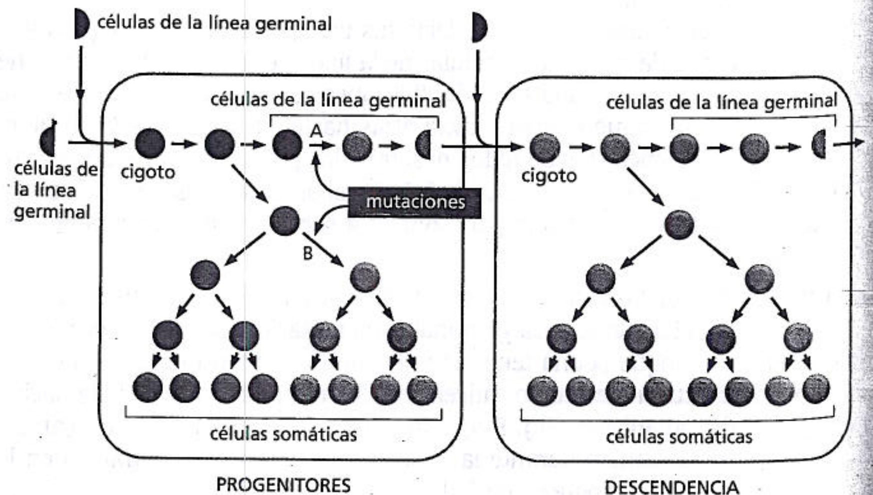


Figura 9-4. Las mutaciones de las células de la línea germinal y las células somáticas tienen diferentes consecuencias. Las mutaciones que se producen en las células de la línea germinal (A) se transmiten hacia la progenie *(verde)*. Todas aquellas que se originan en las células somáticas (B) afectan solo a los individuos en los que éstas se producen *(naranja)*. Como se describe en el capítulo 20 las mutaciones somáticas son responsables de la mayor parte de los cánceres humanos (véase la p. 719).

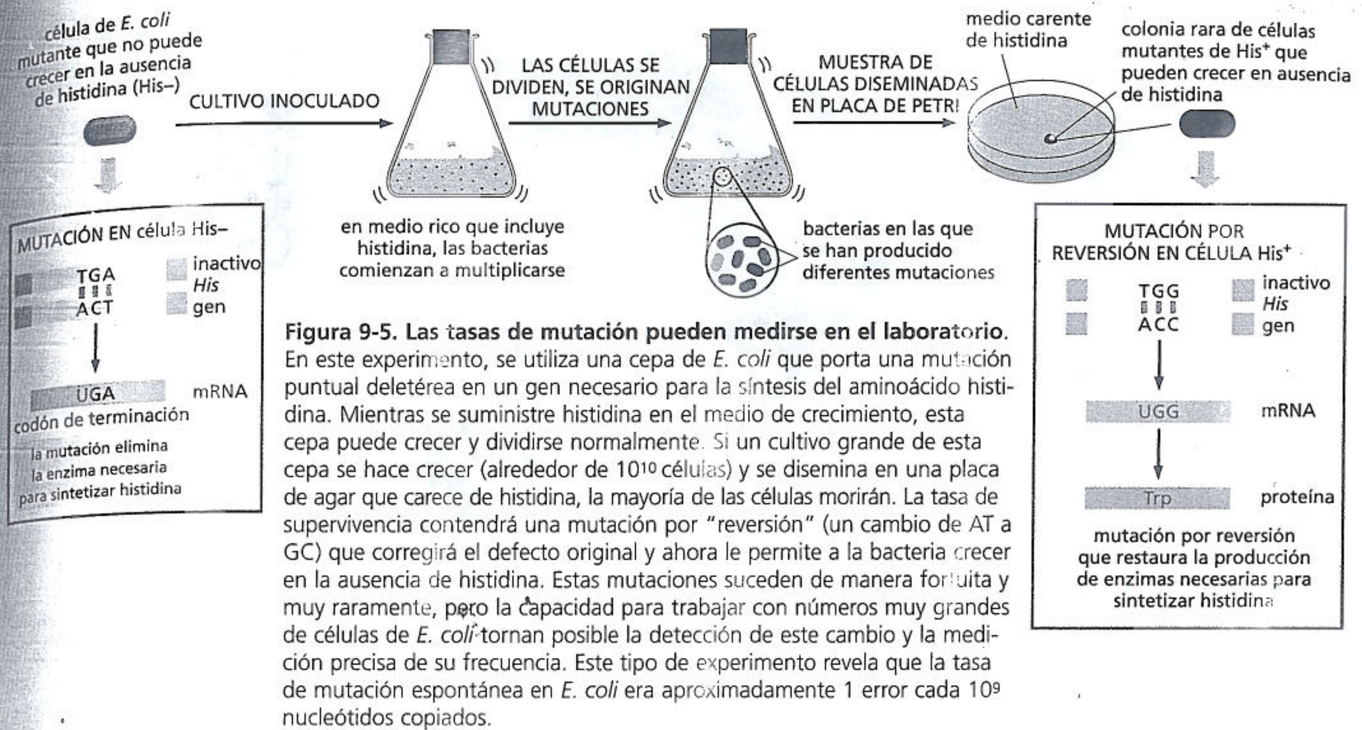


Figura 9-5. Las tasas de mutación pueden medirse en el laboratorio. En este experimento, se utiliza una cepa de *E. coli* que porta una mutación puntual deletérea en un gen necesario para la síntesis del aminoácido histidina. Mientras se suministre histidina en el medio de crecimiento, esta cepa puede crecer y dividirse normalmente. Si un cultivo grande de esta cepa se hace crecer (alrededor de 10^{10} células) y se disemina en una placa de agar que carece de histidina, la mayoría de las células morirán. La tasa de supervivencia contendrá una mutación por "reversión" (un cambio de AT a GC) que corregirá el defecto original y ahora le permite a la bacteria crecer en la ausencia de histidina. Estas mutaciones suceden de manera fortuita y muy raramente, pero la capacidad para trabajar con números muy grandes de células de *E. coli* tornan posible la detección de este cambio y la medición precisa de su frecuencia. Este tipo de experimento revela que la tasa de mutación espontánea en *E. coli* era aproximadamente 1 error cada 10^9 nucleótidos copiados.

dar. Mediante la exposición del cultivo a una condición selectiva –agregado de un antibiótico o eliminación de un nutriente esencial– se pueden encontrar agujas en un pajar: las células que han experimentado una mutación específica son capaces de sobrevivir en condiciones en las que la célula original no lo puede hacer (**Fig. 9-5**). En este sentido es posible descubrir cómo se producen mutaciones específicas y a partir de esto estimar la frecuencia general de mutación en *E. coli*: ésta es aproximadamente de 1 cambio de nucleótido por cada 10^9 pares de nucleótidos por generación celular. Los seres humanos tienen una tasa de mutación de 0,1 cambio de nucleótido por cada 10^9 pares de nucleótidos copiados, lo cual es la décima parte de *E. coli*.

Las mutaciones puntuales proporcionan un modo de regular sutilmente la función de un gen al realizar pequeños ajustes a su secuencia. También pueden destruir un gen. Sin embargo, muy a menudo no hacen ninguna de estas cosas. En muchos sitios del genoma una mutación puntual no tiene absolutamente ningún efecto sobre la aparición o viabilidad del organismo; estas *mutaciones neutrales* podrían caer en regiones cuya secuencia no tiene importancia, como en los intrones. También pueden cambiar la tercera posición de un codón de manera tal que el aminoácido especificado es el mismo, o puede dirigir el reemplazo de un aminoácido con uno relacionado en una posición en la proteína que puede ser tolerado.

Las mutaciones puntuales pueden cambiar la regulación de un gen

Las mutaciones en la secuencia codificante de genes son medianamente fácil de identificar debido a que cambian la secuencia aminoacídica de la proteína resultante en formas predecibles. Pero las mutaciones en el DNA regulatorio son más difíciles de reconocer, debido a que parecen variaciones menores dentro de largos tramos de DNA cuya secuencia nucleotídica real no parece importar, y debido a que las secuencias regulatorias se pueden localizar a distancia desde la secuencia codificante de un gen, puede ser particularmente desafiante identificar estos elementos y los cambios que la afectan.

A pesar de estas dificultades, se descubrieron muchos ejemplos donde las mutaciones puntuales en el DNA regulatorio tuvieron profundas consecuencias para el organismo. Por ejemplo, una pequeña cantidad de personas son resistentes a la

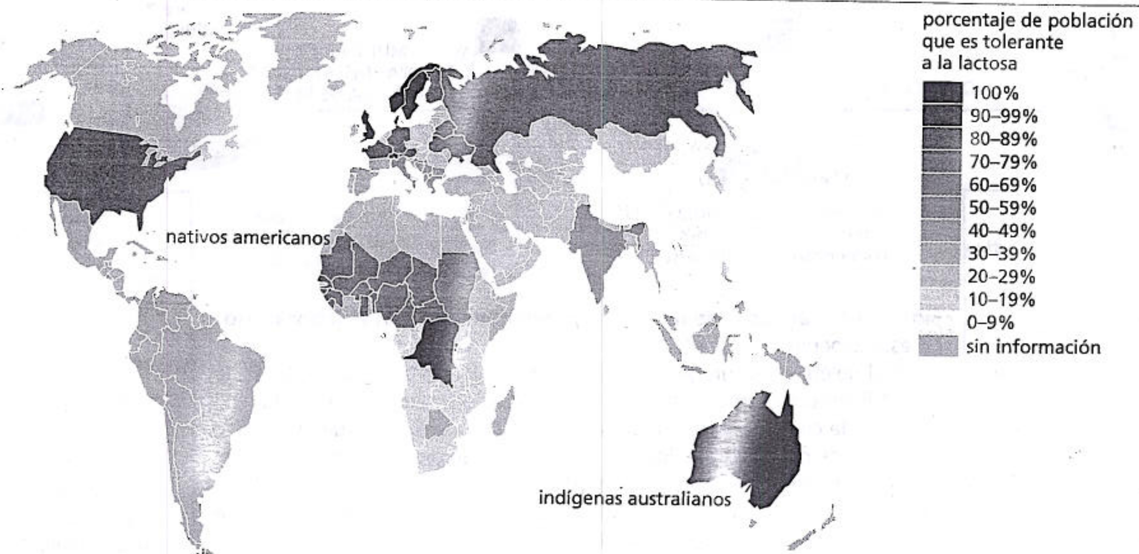


Figura 9-6. La capacidad de los adultos humanos para digerir leche sigue la domesticación del ganado. Hace aproximadamente 10.000 años, los seres humanos en el Noreste de Europa y en África central domesticaron ganado, y la subsecuente disponibilidad de leche –en particular durante períodos de hambruna– otorgó una ventaja selectiva a los seres humanos capaces de digerir lactosa en la vida adulta. En las poblaciones humanas se originaron dos mutaciones puntuales independientes que permitieron la expresión de la lactasa en la adultez, una en el noreste de Europa y la otra en África central. Desde entonces, estas mutaciones se han diseminado a través de diferentes regiones del mundo. Por ejemplo, la migración de los europeos del nordeste hacia América del norte y Australia explica por qué la mayoría de las personas que viven en estos continentes pueden digerir lactosa de adultos aunque las poblaciones nativas permanecen intolerantes a la misma.

malaria debido a que una mutación puntual afecta la expresión de un receptor de superficie celular al que se une el parásito de la malaria *Plasmodium vivax*.

La mutación evita que los glóbulos rojos produzcan el receptor, otorgándole al individuo que porta esta mutación inmunidad a la infección. Las mutaciones puntuales en el DNA regulatorio también cumple un papel en nuestra capacidad de digerir el azúcar lactosa. Nuestros primeros ancestros eran intolerantes a la lactosa, debido a que la enzima que degrada la lactosa, denominada lactasa, solo se sintetizaba en la infancia. Los adultos, que no estaban más expuestos a la leche materna no necesitaban la enzima. Cuando los seres humanos comenzaron a beber leche de los animales domésticos hace 10.000 años, los genes variantes aparecieron en la población humana, capacitando a quienes los portaban a continuar expresando la lactasa en la adultez. En la actualidad, se sabe que las personas que pueden digerir leche como adultos contienen una mutación puntual en el DNA regulatorio del gen de la lactasa, permitiéndole que se transcriba de manera eficiente a través de toda su vida. En este sentido, los adultos que pueden digerir lactosa son "mutantes" con respecto a este rasgo. Es notable cómo rápidamente esta característica nueva se disemina a través de la población humana, en especial en sociedades que dependen en gran medida de la leche para la nutrición (**Fig. 9-6**).

Estos cambios evolutivos en la secuencia regulatoria del gen de la lactasa se produjeron relativamente hace poco (10.000 años), mucho tiempo después de que los seres humanos se convirtieran en una especie distintiva. Sin embargo, en otros genes han ocurrido muchos más cambios ancestrales en las secuencias reguladoras; algunos de estos se cree que subyacen a muchas de las diferencias profundas entre especies (**Fig. 9-7**).

Las duplicaciones del DNA dan origen a familias de genes relativos

Las mutaciones puntuales pueden influir en la actividad de un gen, pero ¿cómo surgen los nuevos genes? La duplicación génica es quizás el mecanismo más importante para la generación de nuevos genes. Una vez que un gen se ha duplicado, una de las dos copias del gen está libre para mutar y especializarse para lle-

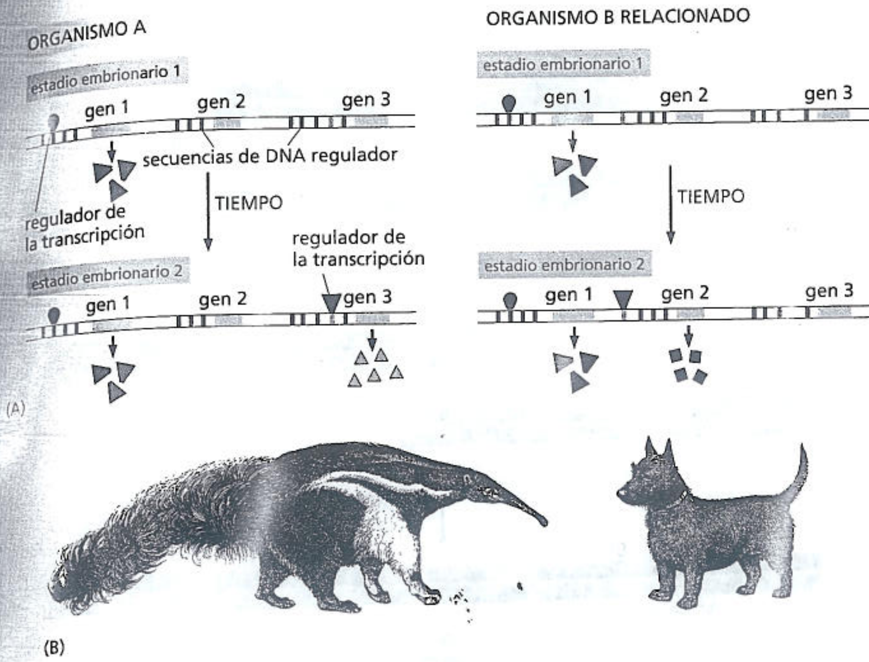


Figura 9-7. Cambios en el DNA regulador pueden tener consecuencias drásticas para el desarrollo de un organismo. (A) En este ejemplo hipotético, los genomas de los organismos A y B codifican el mismo grupo de proteínas reguladoras, pero el DNA regulador que controla la expresión de las proteínas es diferente. Ambos organismos expresan las mismas proteínas en la etapa 1, pero debido a las diferencias en su DNA regulador siguen vías diferentes en la etapa 2. (B) las diferencias en la regulación génica durante el desarrollo pueden tener profundos efectos en la apariencia de los organismos adultos.

var a cabo una función diferente, mientras que la otra continúa llevando la función original. O ambas copias pueden evolucionar de manera que la función del gen ancestral se divida entre ellas. Esta especialización, por lo general, se produce en forma gradual, a medida que se acumulan las mutaciones en los descendientes de la célula original en la que se ha producido la duplicación génica. Series repetidas de este proceso de **duplicación** y **divergencia**, durante millones de años, pueden permitir que un gen dé origen a una familia entera de genes dentro de un único genoma. Los análisis de secuencias de genomas revelan muchos ejemplos de esas familias génicas: en *Bacillus subtilis*, por ejemplo, casi la mitad de los genes tienen uno o más parientes obvios en el genoma (Fig. 9-8). Y en los vertebrados, la familia de genes globina surge claramente a partir de un gen primordial, como se describirá pronto. Pero ¿cómo se produce en primer lugar la duplicación génica?

Se piensa que las duplicaciones génicas, a menudo, se generan por recombinación homóloga, que normalmente se produce sólo cuando se aparean dos segmentos largos de DNA casi idénticos, con mucha frecuencia la misma región de DNA en dos cromosomas homólogos (comentado en el capítulo 6, pp. 218–221). En cambio, en raras ocasiones se producirá una recombinación entre dos secuencias cortas repetidas de DNA que se encuentran a cada lado de un gen. Si se produce el entrecruzamiento, uno de los dos cromosomas resultantes luego terminará con una copia extra del gen y el otro la perderá (Fig. 9-9). Una vez que un gen se ha duplicado de esta forma, posteriores entrecruzamientos pueden añadir copias extras al grupo duplicado con el mismo mecanismo. Como resultado, en los genomas es común encontrar grupos completos de genes estrechamente relacionados, dispuestos en series.

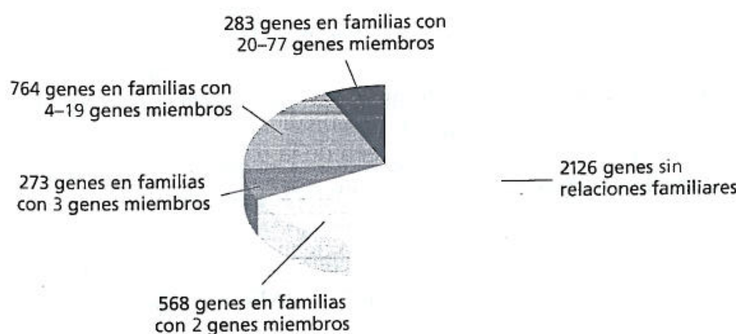


Figura 9-8. El genoma de *Bacillus subtilis* contiene muchas familias de genes relacionados desde el punto de vista evolutivo. La familia más grande de genes en el genoma de *B. subtilis* contiene 77 genes que codifican una variedad de transportadores, proteínas que transportan varios materiales a través de la membrana (descritas en el capítulo 12). (Después F. Kunst y col., *Nature* 390:253- 256, 1997. Con permiso de Macmillan Magazines Ltd.).

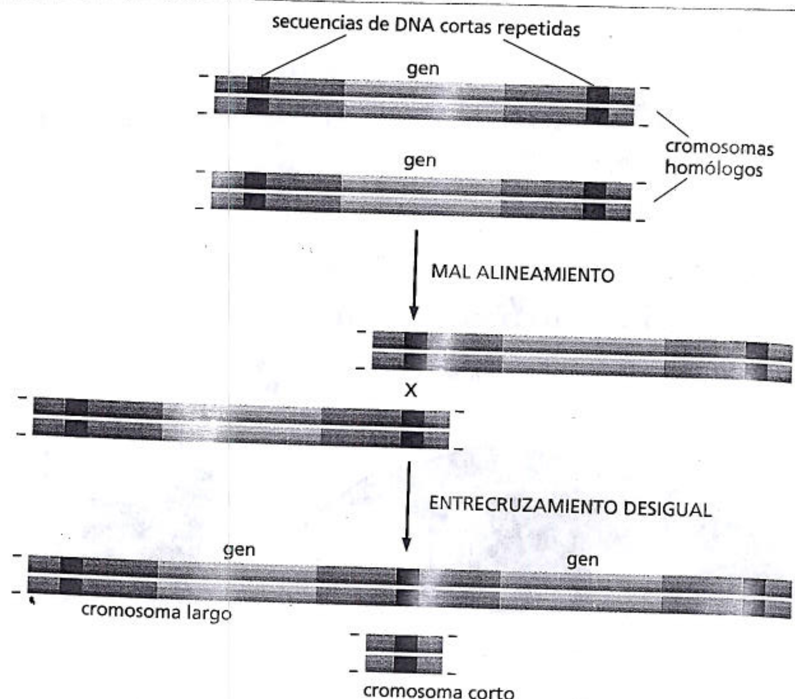
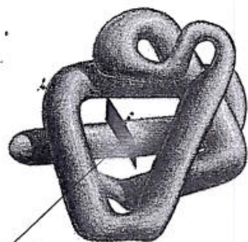


Figura 9-9. La duplicación génica puede producirse mediante un entrecruzamiento entre secuencias repetidas cortas sobre el DNA. Un par de cromosomas homólogos experimenta recombinación en una secuencia corta *(rojo)* que contiene un gen (naranja). En algunos casos estas secuencias repetidas son restos de elementos genéticos móviles, que están presentes en muchas copias en el genoma humano (véase Fig. 6-35). Cuando el entrecruzamiento se produce como se muestra, el cromosoma largo obtendrá dos copias del gen interpuesto, mientras que el cromosoma corto se quedará sin el gen. El tipo de entrecruzamiento que produce duplicaciones génicas se denomina entrecruzamiento desigual debido a que los productos resultantes son desiguales en tamaño. Si este proceso se produce en la línea germinal, algunas progenies heredarán el cromosoma largo, mientras que otras heredarán el corto.



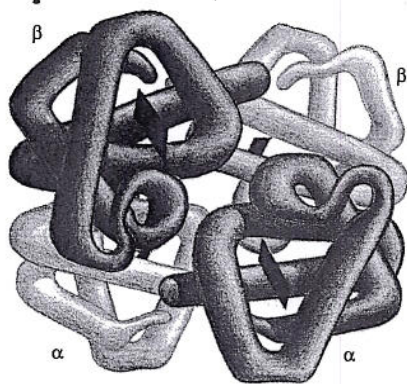


Figura 9-10. Una molécula de globina de cadena simple dio origen a la hemoglobina de cuatro cadenas de seres humanos y otros mamíferos. La molécula de hemoglobina de mamíferos es un complejo de dos cadenas α–globina y dos cadenas β–globina. La globina de cadena simple, que se halla en algunos vertebrados primitivos, forma un dímero que se disocia cuando une oxígeno y representa un estadio intermedio en la evolución de la molécula de cuatro cadenas.

La evolución de la familia del gen de la globina muestra cómo la duplicación y la divergencia pueden dar origen a proteínas adaptadas a un organismo y su desarrollo

La historia evolutiva de la familia del gen de la globina proporciona un ejemplo particularmente bueno del modo en que la duplicación y la divergencia génica producen nuevas proteínas. Las inconfundibles homologías en la secuencia de aminoácidos y la estructura entre las globinas de la actualidad indican que deben haber derivado de un gen ancestral común.

La molécula transportadora de oxígeno más primitiva en animales es una cadena polipeptídica de globina de cerca de 150 aminoácidos, que se encuentra en muchos gusanos marinos, insectos y peces primitivos. La molécula que transporta oxígeno en la sangre de los mamíferos adultos y en la mayoría de otros vertebrados, sin embargo, es más compleja; esta proteína está compuesta por cuatro cadenas de globina de dos tipos distintos, α globina y β–globina (**Fig. 9-10**). Los cuatro sitios de unión al oxígeno en la molécula $\alpha_2\beta_2$ interactúan, lo que permite un cambio alostérico en la molécula cuando ésta une y libera oxígeno. Este cambio estructural permite que la hemoglobina de cuatro cadenas capte y libere oxígeno con mayor eficiencia que en la versión de una sola cadena, en una forma de todo o nada, un logro imposible para la versión de una única cadena. Esta eficiencia es particularmente importante para animales multicelulares grandes, a los que no les alcanza con la difusión simple del oxígeno a través del cuerpo para oxigenar sus tejidos de forma adecuada.

Los genes de la α y β globina son el resultado de duplicaciones génicas que ocurrieron temprano en la evolución de los vertebrados. Hace aproximadamente 500 millones de años, las duplicaciones génicas seguidas por mutación dieron origen a dos genes de globina levemente diferentes, uno que codificaba la α globina y el otro la β globina (**Fig. 9-11**). Más tarde, a medida que los mamíferos comenzaban a divergir de su ancestro común, el gen de la α globina aparentemente sufrió su propia duplicación y divergencia para dar origen al segundo gen de la símil β globina que se expresa en el feto (véase Fig. 9-11). La molécula de hemoglobina resultante tiene una afinidad mayor por el oxígeno comparada con la hemoglobina del adulto y, por lo tanto, ayuda en la transferencia de oxígeno de la madre al feto.

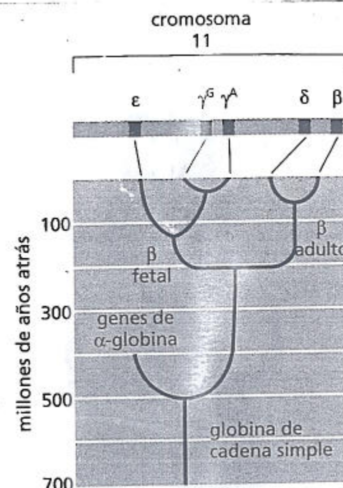


Figura 9-11. Repetidos ciclos de duplicación y mutación generaron la familia de genes de la globina en seres humanos. Hace alrededor de 500 millones de años, un gen de globina ancestral se duplicó y dio origen a la familia de la β-globina y a la familia de genes de la α-globina relacionada. En los vertebrados, la molécula de hemoglobina se forma a partir de dos cadenas α y de dos cadenas β, como se muestra en la figura 9-10. El esquema evolutivo mostrado compara los genes de la globina de muchos organismos diferentes. Por ejemplo, las secuencias de nucleótidos de los genes γ^G y γ^A, que producen cadenas de globina que forman la hemoglobina fetal, son mucho más parecidos entre sí que lo que cada uno de ellos lo es con el gen β adulto. En los seres humanos, los genes de la β-globina se localizan en un agrupamiento en el cromosoma 11. Un acontecimiento que ocurrió hace 300 millones de años separó a los genes α y β-globina; en la actualidad los genes α-globina se encuentran en el cromosoma 16 (no se muestra).

Subsecuentes ciclos de duplicación de ambos genes de α– y β–globina dieron origen a miembros adicionales de estas familias. Cada uno de estos genes duplicados han sido modificados por mutaciones puntuales que afectan las propiedades de la molécula de hemoglobina final, y por cambios en el DNA regulatorio que determina cuándo y cuán fuerte se expresa cada gen. Como resultado, cada globina difiere levemente en su capacidad de unir y liberar oxígeno y se ajusta bien al estadio de desarrollo en el que se expresa.

Además de estos genes de globina especializados, existen diversas secuencias de DNA en los grupos de genes de la α– y β–globina que no son genes funcionales. Ellos son similares en secuencia de DNA a los genes de globina funcionales, pero han sido anulados debido a la acumulación de muchas mutaciones que destruyen las proteínas codificadas y evitan su expresión. La existencia de estos *seudogenes* esclarece que, como se esperaba, cada duplicación del DNA no conduce a un nuevo gen funcional. Aunque nos hemos centrado en la relación entre la duplicación y la divergencia génica con la evolución de los genes de globina, historias similares pueden ocurrir en otras familias de genes presentes en el genoma humano.

Las duplicaciones del genoma entero han modelado la historia evolutiva de muchas especies

La mayor parte de los genes en los genomas de vertebrados existen en múltiples versiones, lo que sugiere que en lugar de que los genes individuales sean duplicados de manera fragmentada, la totalidad del genoma de vertebrados ha experimentado duplicación de una sola vez. En un estadio temprano de la evolución de vertebrados parece ser que el genoma entero experimentó dos duplicaciones sucesivas, que dieron origen a cuatro copias de cada gen. En algunos grupos de vertebrados, como puede verse en peces como las familias del salmón y de la carpa (incluidos el pez cebra, véase Fig. 1-39), incluso podrían haber tenido otra duplicación, creando una multiplicidad génica de ocho veces.

El curso preciso de la evolución del genoma de los vertebrados sigue siendo incierto debido a que han ocurrido otros cambios desde estos acontecimientos evolutivos ancestrales. En algunos organismos, sin embargo, las duplicaciones del genoma completo son especialmente obvias debido a que se han producido recientemente en la evolución. La rana del género *Xenopus*, por ejemplo, comprende a un grupo de especies estrechamente similares relacionadas entre sí por repetidas duplicaciones o triplicaciones de la totalidad del genoma (Fig. 9-12). Estas duplicaciones a gran escala se pueden dar si no se produce la división celular luego de un ciclo de replicación del genoma en la línea germinal de un individuo particular. Una vez que se produce una duplicación accidental del genoma en la línea germinal, será transmitida fielmente hacia otras células germinales en el individuo y en última instancia a su progenie.

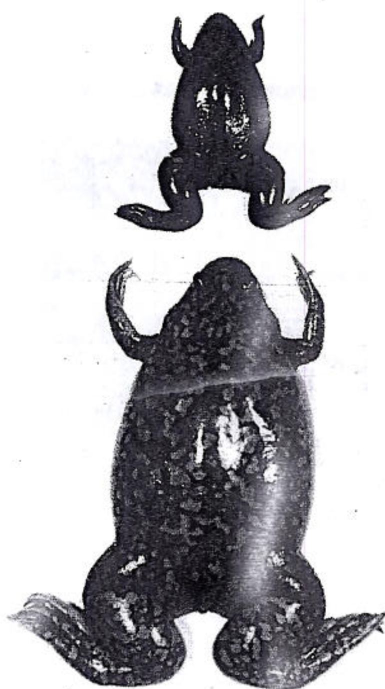


Figura 9-12. Diferentes especies de la rana *Xenopus* tienen diferentes contenidos de DNA. *X. tropicalis (arriba)* tiene un genoma diploide ordinario con dos conjuntos de cromosomas en cada célula somática; el tetraploide *X. laevis (abajo)* tiene un genoma duplicado con dos veces más DNA por célula. (Cortesía de Enrique Amaya).

Se pueden generar nuevos genes por repetición del mismo exón

El papel de la duplicación del DNA en la evolución no se limita a la expansión de las familias génicas. También puede actuar en una escala más pequeña modificando genes individuales que crean duplicaciones internas. Como se comentó en el capítulo 4, muchas proteínas en los eucariontes están compuestas de una serie de *dominios* proteicos que se repiten. Algunas proteínas, como los anticuerpos (véase Fig. 4-29) o las proteínas fibrosas como el colágeno, se forman a partir de múltiples copias del mismo dominio unidos en serie. Estas proteínas son codificadas por genes que han evolucionado mediante duplicaciones repetidas de un solo segmento de DNA dentro de un gen.

En los eucariontes, cada dominio proteico suele estar codificado por un exón separado. Las duplicaciones de estos dominios dentro de un gen pueden ocurrir por rotura y posterior unión del DNA en cualquier sitio a lo largo de los intrones a cada lado del exón que codifica el dominio proteico (Fig. 9-13). Sin intrones habría muy pocos sitios en el gen original donde el entrecruzamiento recombinatorio entre los cromosomas homólogos podría duplicar el dominio sin dañarlo. Por esta razón se piensa que la evolución de nuevas proteínas ha sido facilitada enormemente mediante la organización de secuencias que codifican DNA eucarionte como unas series de exones relativamente cortos separados por largos intrones no codificantes (Figs 7-17 y 71-8).

También pueden crearse nuevos genes mediante el barajado de exones

El tipo de recombinación que le permite a los exones duplicarse dentro de un gen también se puede producir entre dos genes diferentes, agrupando a dos exones al principio separados que codifican dominios proteicos bastante diferentes: un importante proceso denominado **barajado o reordenamiento (*shuffling*) de exones**. La falta de precisión que puede tolerarse en un acontecimiento de recombinación que rompe y vuelve a unir dos intrones incrementa enormemente la probabilidad de que un acontecimiento de recombinación azaroso entre intrones de diferentes genes genere un gen híbrido que conecte a los exones. Los resultados que se supone que dan estas recombinaciones se observan en muchas proteínas, que son un mosaico de muchos dominios proteicos diferentes (Fig. 9-14).

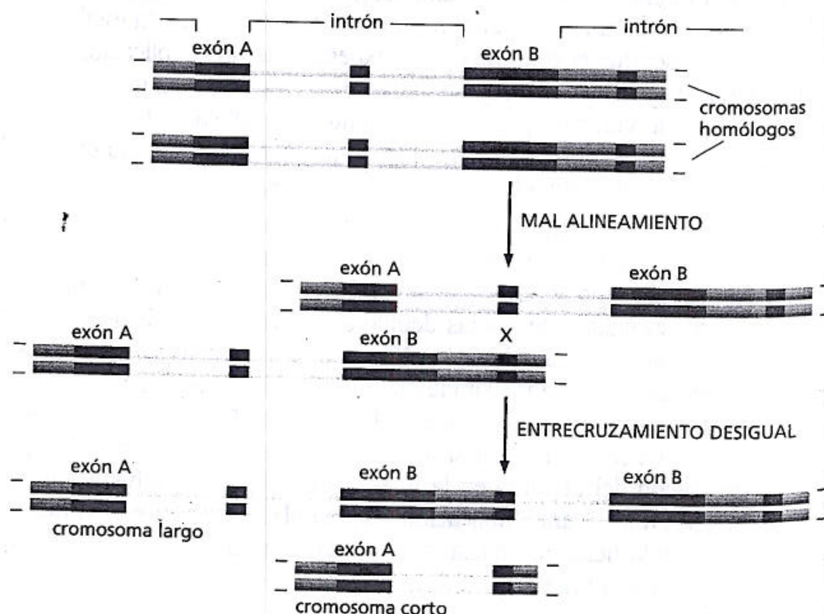


Figura 9-13. Un exón puede duplicarse por un acontecimiento de recombinación. El esquema general es el mismo que el de la figura 9-9, con una secuencia corta repetida indicada en rojo; sin embargo, aquí está duplicando un exón dentro de un gen (*azul*), en lugar de un gen entero. Un mRNA transcripto a partir de un gen original contiene dos exones, A y B, mientras que el cromosoma largo producirá un mRNA con tres exones (A, B y una segunda copia de B). Debido a que los exones duplicados son unidos por un intrón *(gris/amarillo)* con sus secuencias de corte y empalme intactas, la secuencia de nucleótidos modificada puede ser rápidamente cortada y empalmada luego de la transcripción y producir un mRNA funcional.

Se ha propuesto que todas las proteínas codificadas por el genoma humano (aproximadamente 23.000) se originaron a partir de duplicación y barajado de unos pocos miles de exones distintos, y que cada uno codifica un dominio proteico de alrededor de 30-50 aminoácidos. Esta idea notable sugiere que la gran diversidad de estructuras proteicas se generó a partir de una pequeña "lista de partes" universal, montadas en diferentes combinaciones.

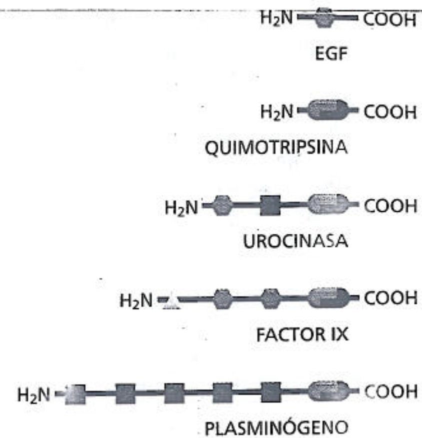


Figura 9-14. El reordenamiento o barajado de exones puede generar proteínas con combinaciones nuevas de dominios proteicos. Cada tipo de símbolo representa un tipo diferente de dominio proteico. Durante la evolución, estos han sido unidos extremo con extremo creando las proteínas humanas actuales que se muestran aquí.

La evolución de los genomas se ha visto acelerada por el movimiento de los elementos genéticos móviles

Los elementos genéticos móviles descritos en el capítulo 6 son otra fuente importante de cambio genómico que afectó profundamente las estructuras de los genomas modernos. Estas secuencias de DNA parasitario pueden colonizar un genoma y dispersarse en su interior. Durante este proceso ellos interrumpen, con frecuencia, la función o alteran la regulación de los genes existentes; algunas veces incluso crean genes nuevos mediante fusiones entre las secuencias móviles y los segmentos de genes existentes.

La inserción de un elemento genético móvil en la secuencia codificante de un gen o en su región reguladora es una causa frecuente de mutaciones "espontáneas" que se observan en muchos organismos. Los elementos genéticos móviles pueden interrumpir gravemente la actividad de un gen si se alojan directamente dentro de la secuencia codificante. Esa mutación por inserción destruye la capacidad del gen para codificar una proteína útil. Por ejemplo, una cantidad de mutaciones en el gen del factor VIII que causa la hemofilia en seres humanos es el resultado de la inserción de elementos genéticos móviles dentro del gen.

La actividad de los elementos genéticos móviles también puede cambiar la forma en la que son regulados los genes existentes. Por ejemplo, una inserción de un elemento dentro de la región reguladora de un gen, con frecuencia, tendrá un marcado efecto sobre el lugar y el momento en el que se exprese el gen (Fig. 9-15). Muchos elementos genéticos móviles portan secuencias de DNA que son reconocidas por reguladores de la transcripción específicos; si los elementos se insertan ellos mismos cerca de un gen, ese gen puede quedar bajo el control de estos reguladores de la transcripción nuevos, cambiando así el patrón de la expresión del gen. Por lo tanto, los elementos genéticos móviles pueden ser una fuente significativa de cambios del desarrollo, y se piensa que fueron particularmente importantes en la evolución de los planos corporales de las plantas y los animales.

Finalmente, los elementos genéticos móviles proporcionan oportunidades para los reordenamientos del genoma al actuar como blancos para la recombinación homóloga. Por ejemplo, se piensa que las duplicaciones que dieron origen al grupo génico de la β–globina se han producido por entrecruzamientos entre las secuencias del tipo *Alu* que se encuentran esparcidas en todo el genoma (véanse Figs. 9-9 y 6-35). Sin embargo, los elementos genéticos móviles también desempeñan un papel más directo en la evolución de los genomas. Además de relocalizarse ellos mismos, los elementos parasíticos ocasionalmente reorganizan las secuencias vecinas de DNA del genoma hospedador. Cuando dos elementos genéticos

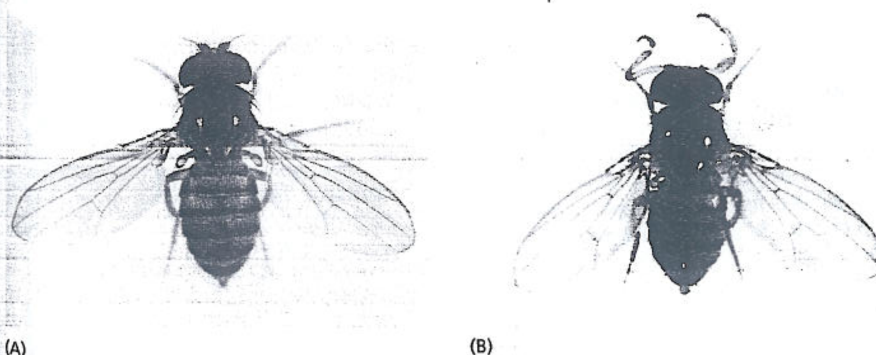


Figura 9-15. Una mutación debida a un elemento genético móvil puede inducir alteraciones drásticas en el plan corporal de un organismo. (A) Una mosca de la fruta normal *(Drosophila melanogaster)*. (B) Las antenas de la mosca se han transformado en patas debido a una mutación en secuencias de DNA regulador que activa a los genes para la formación de patas en posiciones que normalmente se reservan para la formación de antenas. Aunque este cambio particular no es ventajoso para la mosca, ilustra cómo el movimiento de un elemento transponible puede producir un cambio importante en la apariencia de un organismo. (A, cortesía de E. B. Lewis; B, cortesía de Matthew Scott).

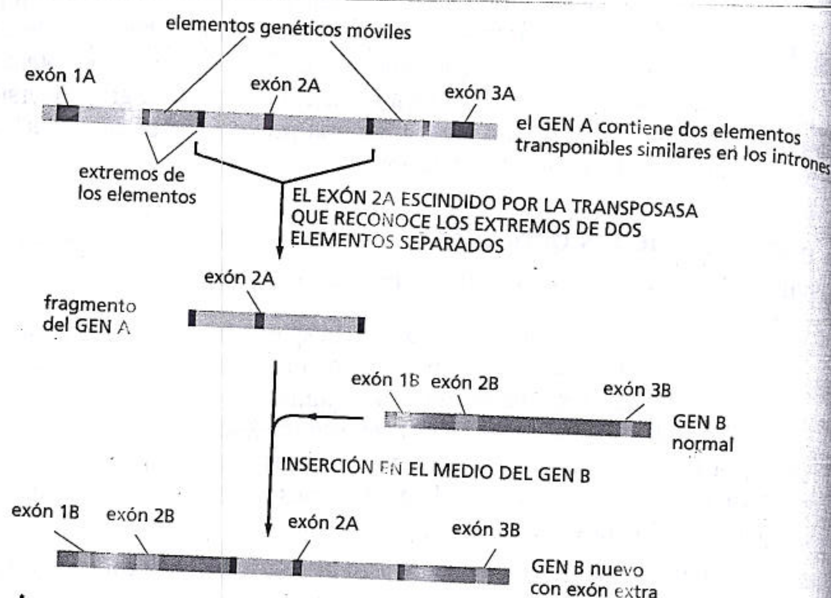


Figura 9-16. Los elementos genéticos móviles pueden crear nuevos ordenamientos de exones. Cuando ocurre que dos elementos genéticos móviles del mismo tipo *(rojo)* se insertan uno cerca del otro en un cromosoma, el mecanismo de transposición utiliza ocasionalmente los extremos de dos elementos diferentes (en lugar de dos extremos del mismo elemento) y de este modo mueve el DNA cromosómico entre ellos a un nuevo sitio. Debido a que los intrones son muy grandes en relación con los exones, la inserción aquí representada de un nuevo exón en un intrón preexistente es un resultado frecuente de los acontecimientos de transposición.

móviles que son reconocidos por la misma transposasa se integran en sitios cromosómicos vecinos, el DNA puede ser transpuesto entre ellos. En los genomas de eucariontes esto proporciona una vía particularmente efectiva para el movimiento de los exones, que genera nuevos genes al crear nuevos reordenamientos de los exones existentes (Fig. 9-16).

PREGUNTA 9-2

¿Por qué piensa que la transferencia génica horizontal prevalece más en los organismos unicelulares que en los organismos multicelulares?

Los genes pueden intercambiarse entre organismos por transferencia génica horizontal

Hasta ahora se han considerado los cambios genéticos que tienen lugar dentro del genoma de un organismo individual. Sin embargo, los genes y otras partes de los genomas se pueden intercambiar entre individuos de diferentes especies. Este mecanismo, conocido como **transferencia génica horizontal**, es poco frecuente en los eucariontes, pero común en las bacterias (Fig. 9-17).

E. coli, por ejemplo, parece haber adquirido al menos un quinto de su genoma a partir de otras especies dentro de los 100 millones de años transcurridos. Y estos intercambios genéticos son actualmente responsables del aumento de nuevas y peligrosas cepas de bacterias resistentes a los fármacos. Por ejemplo, los genes que confieren resistencia a los antibióticos pueden transferirse de una especie a otra. Este intercambio de DNA le proporciona a la bacteria receptora una enorme ventaja selectiva que le permite evadir los compuestos antimicrobianos que constituyen la primera línea de ataque de la medicina moderna contra la infección bacteriana. Como resultado, muchos antibióticos dejan de ser efectivos contra las infecciones bacterianas comunes para las que fueron utilizados originalmente. Por ejemplo, la mayoría de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, la bacteria que causa la gonorrea, ahora son resistentes a la penicilina; por esta razón, este antibiótico no se usa más en el tratamiento primario de esta enfermedad.

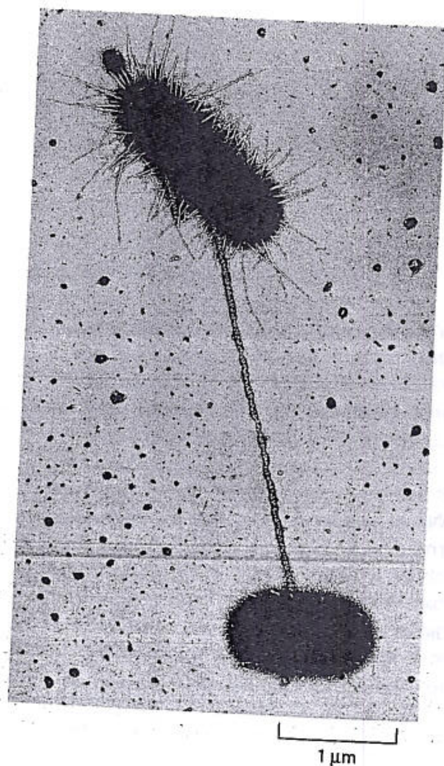


Figura 9-17. Las células bacterianas pueden compartir DNA mediante un proceso denominado conjugación.
La conjugación comienza cuando una célula donante (parte superior) se une a una célula receptora (parte inferior) mediante un apéndice fino, denominado pili sexual. Luego se forma un puente citoplasmático entre las células y una copia del plásmido es transferida a través de éste hacia la célula receptora. Luego el DNA de la célula donante se mueve a través del pili dentro de la célula receptora. En esta microfotografía el pili ha sido marcado a lo largo de su longitud por virus que se adhieren específicamente a él para tornar más visible la estructura. La conjugación es uno de los mecanismos por el cual la bacteria realiza la transferencia génica horizontal. (Cortesía de Charles C. Brinton Jr. y Judith Carnahan).

RECONSTRUCCIÓN DEL ÁRBOL GENEALÓGICO DE LA VIDA

A partir de la comprensión de los mecanismos moleculares básicos que cambian los genomas se puede comenzar a descifrar las claves de nuestra historia evolutiva por la comparación y el análisis de las secuencias de genomas. Quizás la revelación más sorprendente de estos análisis de genomas ha sido que los **genes homólogos** –genes que son similares en sus secuencias nucleotídicas debido a un antepasado en común– pueden reconocerse a través de enormes distancias evolutivas. Los homólogos inconfundibles de muchos genes son fáciles de detectar en organismos como gusanos, moscas de la fruta e incluso bacterias. El gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, la mosca *Drosophila melanogaster*, y el vertebrado *Homo sapiens* –los tres primeros animales de los cuales se obtuvo una secuencia completa del genoma– son parientes muy lejanos: se piensa que el linaje que llevó a vertebrados ha divergido del que llevó hacia nematodos e insectos más de 600 millones de años atrás. Incluso cuando los 19.000 genes de *C. elegans*, los 14.000 de *Drosophila* y los 25.000 o más del *Homo sapiens* son comparados sistemáticamente, se puede hallar que cerca del 50% de estos genes en cada una de las especies tiene homólogos en una o ambas de las otras dos especies. En otras palabras, versiones claramente reconocibles de al menos la mitad de todos los genes humanos ya estaban presentes en el antepasado común de gusanos, moscas y seres humanos.

Mediante el trazado de las relaciones entre los genes se puede comenzar a definir las relaciones evolutivas entre diferentes especies, situando a cada bacteria, protista, animal, planta u hongo en un único y vasto árbol genealógico de la vida. En esta sección se explicará cómo se determinan estas relaciones y qué nos dicen sobre nuestra herencia genética.

Los cambios genéticos que proporcionan ventajas selectivas probablemente tiendan a ser preservados

La evolución suele ser pensada como progresiva, pero en el nivel molecular, es al azar. Considérese el destino de una mutación puntual. Como se explicó al principio, en pocas ocasiones una de esas mutaciones puede representar un cambio favorable; con frecuencia esto no causará diferencias significativas en la perspectiva de un organismo y, a veces, provocará graves daños, al interrumpir, por ejemplo, la secuencia codificante de una proteína clave. Las mutaciones del primer tipo tenderán a ser perpetuados porque el organismo que las hereda tendrá mayor probabilidad de reproducirlos. Las mutaciones del segundo tipo –cambios *selectivamente neutrales*– pueden o no ser perpetuados: en la competición de recursos limitados es una cuestión de azar si el organismo mutante o sus parientes más cercanos asegurarán los recursos disponibles y se reproducirán de manera exitosa. En contraste, las mutaciones que provocan graves daños no conducen a ningún lado: el organismo que las hereda muere, sin dejar progenie. Mediante la repetición de interminables ciclos de ensayo y error –de mutación y selección natural– los organismos evolucionan gradualmente. Sus especificaciones genéticas cambian y desarrollan nuevas formas de explotar el ambiente con mayor efectividad lo que les permite sobrevivir en competición con otros y reproducirse de manera satisfactoria.

Claramente algunas partes del genoma pueden acumular mutaciones con mayor facilidad que otras en el curso de la evolución. Un segmento de DNA que no codifica proteínas y que no desempeña papeles regulatorios significativos es libre de cambiar a una velocidad limitada solo por la frecuencia de mutaciones al azar. En contraste, un gen que codifica una proteína esencial altamente optimizada o una molécula de RNA no puede alterarse tan fácilmente: cuando se producen las mutaciones, el organismo defectuoso es casi siempre eliminado. Los genes de este último tipo son, por lo tanto, *altamente conservados*; es decir, las proteínas que ellos codifican son muy similares de un organismo a otro. A lo largo de 3.500 millones de años o más de historia evolutiva, los genes más altamente conservados se

PREGUNTA 9-3

Los genes altamente conservados como los del RNA ribosómico están presentes como parientes claramente reconocibles en todos los organismos sobre la Tierra; por lo tanto, han evolucionado muy lentamente a lo largo del tiempo. ¿Estos genes "nacieron" perfectos?

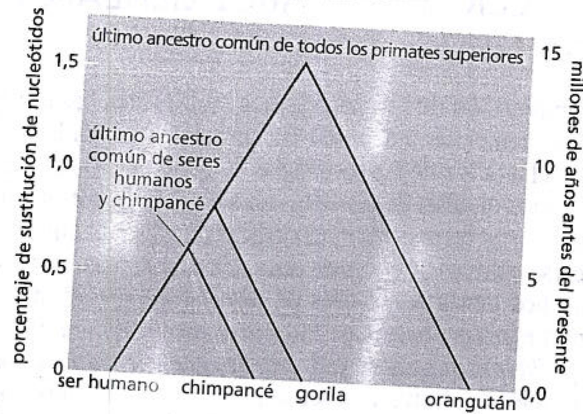


Figura 9-18. Árboles filogenéticos que expone las relaciones entre formas de vida moderna. En el árbol genealógico de los primates superiores, los seres humanos se encuentran más próximos a los chimpancés que a los gorilas y a los orangutanes. Como se indica, se estima que las secuencias de los genomas de las cuatro especies difieren de la secuencia de su último ancestro común en alrededor de un 1,5%. Debido a que los cambios ocurren independientemente en cada linaje, la divergencia entre dos especies cualquiera será el doble de la cantidad de cambios que tienen lugar entre cada especie y su ancestro común. Por ejemplo, los seres humanos y los orangutanes típicamente muestran divergencias de secuencias levemente superiores al 3%, mientras que los genomas de seres humanos y de chimpancé difieren en cerca del 1,2%. Aunque este árbol filogenético se basa solo en la secuencia de nucleótidos, los tiempos de divergencia estimados, mostrados sobre el lado derecho del gráfico, derivan de datos obtenidos de los registros fósiles. (Modificado de F.C. Chen y W.H. Li, *Am. J. Hum. Genet.* 68:444-456, 2001. Con autorización de Elsevier).

mantienen perfectamente reconocibles en todas las especies vivientes. Estos últimos genes (que codifican proteínas esenciales como las DNA y RNA polimerasas) son los que se deben examinar si se desea trazar las relaciones de parentesco entre los organismos relacionados en forma distante en el árbol de la vida.

Para las especies que están más estrechamente relacionadas, sin embargo, es más informativo enfocarse en los cambios selectivamente neutrales. Esto cambios se acumulan continuamente a una velocidad que es independiente de las presiones de selección. Por lo tanto, proporciona un reloj evolutivo simple y fácilmente legible que puede utilizarse para estimar la cantidad de tiempo que ha pasado desde que las dos especies divergieron a partir de un ancestro común. Por ejemplo, las comparaciones de esos cambios de nucleótidos han permitido construir un **árbol filogenético** altamente preciso que muestra las relaciones evolutivas entre los primates superiores (Fig. 9-18).

Los genomas de seres humanos y de chimpancés son similares en la organización así como en las secuencias detalladas

Los seres humanos y los chimpancés están tan estrechamente relacionados que es posible reconstruir las secuencias génicas del ancestro común extinguido de las dos especies (Fig. 9-19). No solo los seres humanos y los chimpancés parecen tener esencialmente el mismo grupo de 25.000 genes, sino que estos genes están organizados casi del mismo modo a lo largo de los cromosomas de las dos especies. La única excepción importante es el cromosoma 2 humano, que se originó a partir de una fusión de dos cromosomas que permanecen separados en el chimpancé, el gorila y el orangután.

Incluso el masivo remodelado de los genomas por parte de los elementos genéticos móviles (descritos al comienzo de este capítulo) ha producido solo diferencias menores entre los genomas de seres humanos y de chimpancé. Más del 99% de los millones de copias de las secuencias del retrotransposón *Alu* que están presentes en ambos genomas se encuentran en las posiciones correspondientes, lo que indica que la mayor parte de las secuencias *Alu* en nuestro genoma experimentaron duplicación y transposición antes de la divergencia de seres humanos y chimpancés. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, los miembros de la familia *Alu* todavía son capaces de transponer, como es evidente a partir de una pequeña cantidad de casos en los que nuevas inserciones *Alu* han causado enfermedad genética humana. Estos casos involucran transposición de su DNA hacia sitios que estaban desocupados en los genomas de los progenitores de los pacientes.

Las regiones importantes desde el punto de vista funcional se destacan como islas de secuencias de DNA conservada

Cuando se investiga mucho más atrás en nuestra historia evolutiva y se comparan nuestros genomas con los de parientes más distantes, el cuadro cambia. Los

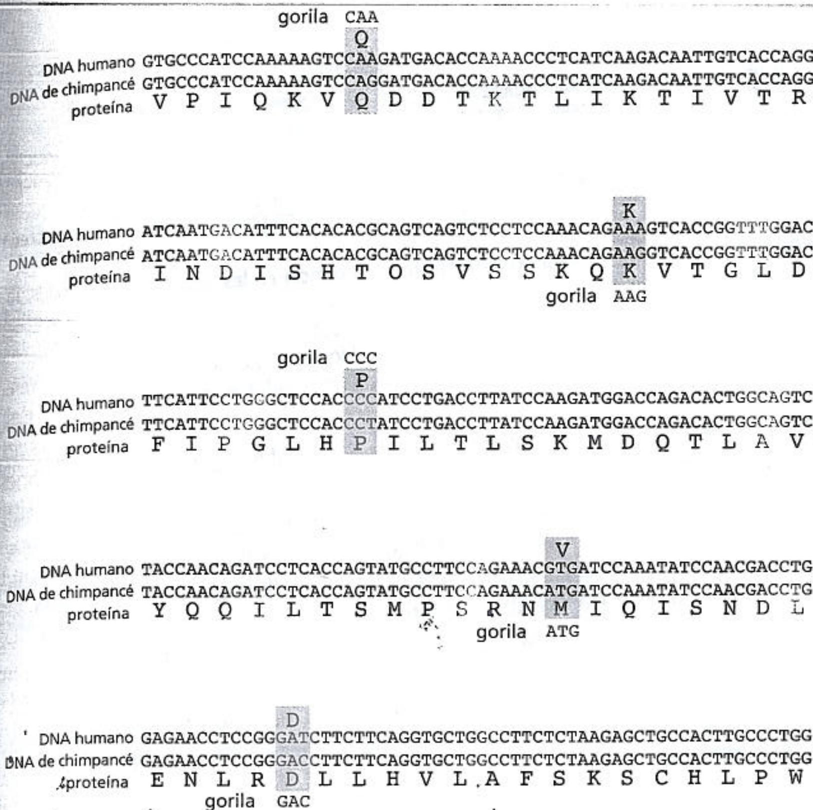


Figura 9-19. Las secuencias de genes ancestrales pueden reconstruirse mediante la comparación de secuencias de especies estrechamente relacionadas de la actualidad. Aquí se muestran en cinco secciones contiguas las secuencias de la región codificante del gen de la leptina de seres humanos y chimpancés. La leptina es una hormona que regula el consumo y el uso de energía. Como es indicado por los codones recuadrados en *verde*, sólo 5 (de un total de 441 nucleótidos) difieren entre las dos secuencias. Sólo uno de estos cambios produce un cambio en la secuencia de aminoácidos. La secuencia del último ancestro común fue probablemente la misma en la que coinciden las secuencias de seres humanos y de chimpancés; en los pocos lugares donde no coinciden, la secuencia del gorila puede utilizarse como un "desempate." Esta estrategia se basa en las relaciones que se muestran en la figura 9-16: las diferencias entre seres humanos y chimpancés reflejan acontecimientos relativamente recientes en la historia evolutiva, y la secuencia del gorila revela la secuencia precursora más probable. Por conveniencia, únicamente se muestran los primeros 300 nucleótidos de las secuencias codificantes de la leptina. Los últimos 141 son idénticos entre seres humanos y chimpancés.

linajes de seres humanos y ratones, por ejemplo, divergieron hace 75 millones de años. Ambos tienen genomas de prácticamente el mismo tamaño, con casi la misma cantidad de genes. Ambos genomas están salpicados con elementos genéticos móviles. Sin embargo, los elementos genéticos móviles en los genomas de ratones y seres humanos, si bien son similares en secuencia, difieren en cuanto a su distribución. Esta observación implica que los elementos han estado proliferando de manera independiente y moviéndose alrededor del genoma en cada linaje desde la divergencia de las dos especies (Fig. 9-20). Además, la organización a gran escala de los genomas se ha mezclado por muchos episodios de rotura y recombinación cromosómica –se estima un total de aproximadamente 180 acontecimientos "de rotura y unión". Como resultado, las estructuras globales de los cromosomas han cambiado drásticamente. Por ejemplo, en los seres humanos la mayor parte de los centrómeros se localizan cerca de la parte media del cromosoma, mientras que los de ratones se localizan en los extremos de los cromosomas.

Sin embargo, pese a la recombinación genética, todavía se pueden reconocer muchos bloques de **sintenía conservada**, regiones donde genes que se corresponden se mantuvieron juntos en el mismo orden en ambas especies. Estos genes fueron vecinos en las especies ancestrales y se mantuvieron como vecinos en ambas especies actuales. Más del 90% de los genomas de ratón y de ser humano pueden dividirse en estas regiones correspondientes de sintenía conservada.

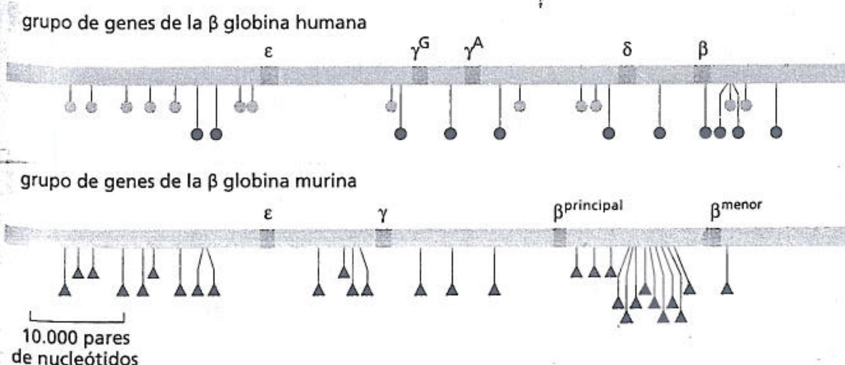


Figura 9-20. Las posiciones de los elementos genéticos móviles en el genoma humano y murino reflejan el largo tiempo evolutivo que separó a las dos especies. Este fragmento del cromosoma 11 (introducido en la figura 9-11) contiene 5 genes símil β–globina diferentes *(naranja)*; la región comparable del genoma murino sólo contiene cuatro. En el grupo de genes β–globina, se muestran las posiciones de la secuencia *Alu* humana *(círculos verdes)* y de las secuencias *L1* humanas *(círculos rojos)*. En el genoma de ratón se muestran las posiciones de los elementos *B1* (relacionados con las secuencias *Alu* humanas; *triángulos azules*) y los elementos *L1* del ratón (relacionados con las secuencias *L1* de seres humanos; *triángulos amarillos*). La ausencia de elementos genéticos móviles dentro de los genes estructurales de globina puede atribuirse a la selección natural, que podría haber eliminado cualquier inserción que comprometiera la función génica. Los elementos genéticos móviles *Alu* y L1 se describen con mayor detalle en el capítulo 6 (pp. 222-223). (Cortesía de Ross Hardison y Webb Miller).

ratón

```
GTGCCTATCCAGAAAGTCCAGGATGACACCAAAACCCTCATCAAGACCATTGTCACCAGGATCAATGACATTTCACACGGTA-GGAGTCTCATGGGGGACAAAGATGTAGGACTA
GTGCCCATCCAAAAAGTCCAAGATGACACCAAAACCCTCATCAAGACAATTGTCACCAGGATCAATGACATTTCACACACGGTAAGGAGAGT-ATGCGGGGACAAA---GTAGAACTG
```

ser humano

exón ←→ intrón

```
ACCAGAGTCTGAGAAACATGTCATGCACCTCCTAGAAGCTGAGAGTTTAT-AAGCCTCGAGTGTACAT-TATTTCTGGTCATGGCTCTTGTCACTGCTGCCTGCTGAAATACAGGGCTA
GCCAG--CCC-AGCACTGGCTCCTAGTGGCACTGGACCCAGATAGTCCAAGAAACATTTATTGAACGCCTCCTGAATGCCAGGCACCTACTGGAAGCTGA--GAAGGATTTGAAAGCAA
```

Figura 9-21. Las mutaciones acumuladas han provocado una considerable divergencia en las secuencias de nucleótidos de los genomas humano y murino. Aquí se muestran en dos secciones contiguas las porciones de las secuencias del gen de la leptina humana y murino. Las posiciones donde las secuencias difieren solo por la sustitución de un nucleótido se recuadran en *verde*, y las posiciones donde difieren por el agregado o la pérdida de nucleótidos se recuadran en *amarillo*. Obsérvese que la secuencia codificante del exón está mucho más conservada que la secuencia del intrón adyacente.

Dentro de estas regiones se puede alinear el DNA del ratón con el DNA del ser humano y comparar las secuencias nucleotídicas en detalle. Estas comparaciones de secuencias genómicas extensas revelan que en aproximadamente 80 millones de años desde que se ha producido la divergencia de seres humanos y ratones a partir de su ancestro común, cerca del 50% de los nucleótidos han cambiado. Sin embargo, contra este trasfondo de diferencias es posible comenzar a vislumbrar claramente las regiones donde los cambios no son tolerados y las secuencias de seres humanos y de ratón se mantuvieron estrechamente similares (Fig. 9-21). Aquí, las secuencias se han conservado gracias a la **selección por purificación**; es decir, la eliminación de los individuos que portan mutaciones que interfieren con funciones importantes.

El poder de la *genómica comparativa* se puede incrementar al comparar nuestro genoma con los genomas de animales adicionales, incluyendo la rata, la gallina, y el perro. Estas comparaciones aprovechan los resultados del "experimento natural" que ha durado por cientos de millones de años y destacaron algunas de las regiones más interesantes de estos genomas. Además, revelan que apenas el 5% del genoma humano consiste en las secuencias de DNA que se encuentran altamente conservadas en muchos otros mamíferos (Fig. 9-22). Sorprendentemente, sólo alrededor de un tercio de estas secuencias codifican proteínas. Algo de estas secuencias no codificantes conservadas corresponden a DNA regulatorio, mientras que otras producen moléculas de RNA que no se traducen a proteína. Pero la función de la mayoría de estas secuencias permanece desconocida. Este descubrimiento inesperado permitió a los científicos concluir que comprendemos mucho menos acerca de la biología celular de los vertebrados de lo que habíamos imaginado. Con enormes oportunidades para nuevos descubrimientos, debemos esperar muchas sorpresas por delante.

Las comparaciones de genoma demuestran que los vertebrados ganan y pierden DNA rápidamente

Al retroceder aún más lejos en la evolución se puede comparar nuestro genoma con el de los peces. Los linajes del pez y de los mamíferos divergieron cerca de 400 millones de años. Esto es suficiente para que cambios de secuencias al azar y diferentes presiones de selección hayan eliminado casi todas las similitudes en la secuencia de nucleótidos, excepto en los lugares en los que la selección por purificación ha intervenido evitando el cambio. Las regiones conservadas entre seres humanos y peces se destacan en forma aún más notable. En los peces se puede reconocer la mayoría de los mismos genes e incluso muchos de los mismos segmentos de DNA regulatorio que en los seres humanos. Por otra parte, la extensión de la duplicación de un determinado gen es con frecuencia diferente, lo que produce distinto número de miembros de familias génicas en las dos especies.

Es de destacar también que aunque todos los genomas de vertebrados contienen en líneas generales la misma cantidad de genes, su tamaño global varía considerablemente. Mientras que el ser humano, el perro y el ratón se encuentran todos en la misma variación de tamaño (3×10^9 pares de nucleótidos), el genoma de gallina sólo es un tercio de este tamaño. Un ejemplo extremo de compresión

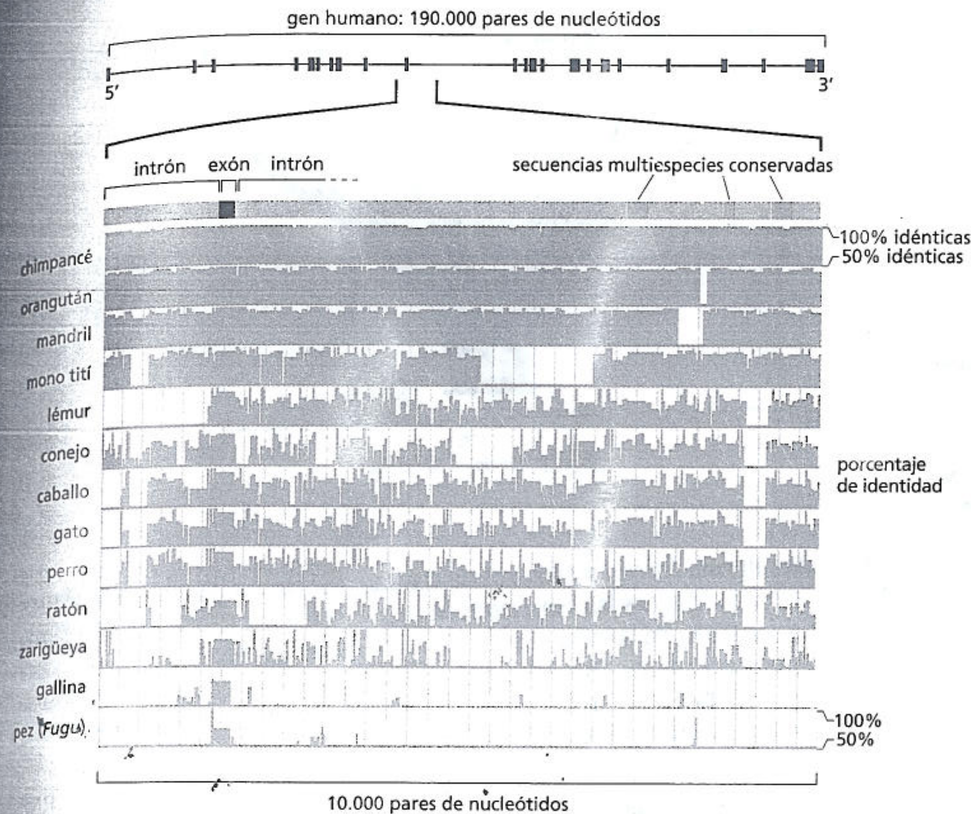


Figura 9-22. La comparación de las secuencias nucleotídicas de muchos vertebrados diferentes revela regiones de alta conservación. La secuencia de nucleótidos analizada en este esquema es de un segmento pequeño del gen humano que codifica una proteína de transporte de la membrana plasmática. Los exones en el gen completo *(arriba)* se indican en *magenta*. En la región expandida del gen, la posición del exón se indica en *rojo*. En la parte inferior de la figura, la secuencia de DNA humana está alineada con la de vertebrados diferentes; en *verde* se grafica el porcentaje de identidad con el gen humano para segmentos sucesivos de 100 pares de nucleótidos, sólo se muestran las identidades por encima del 50%. La secuencia del exón está conservada en todas las especies, incluyendo la de gallina y la del pez. En los mamíferos, pero no en la gallina y el pez, existen tres bloques de secuencias intrónicas que están conservadas, que se muestran en *azul*. Se desconocen las funciones de la mayoría de las secuencias intrónicas en el genoma humano, incluyendo estas tres. (Cortesía de Eric D. Green).

de genoma es el del pez *Fugu rubripes* (Fig. 9-23), que tiene sólo la décima parte de los genomas de mamíferos, en gran parte debido al tamaño pequeño de sus intrones. Los intrones de *Fugu*, como así también otros segmentos no codificantes en el genoma animal, carecen de DNA repetitivo que constituye una gran porción de la mayoría de los genomas de mamíferos. No obstante, las posiciones de la mayoría de los intrones *Fugu* están perfectamente conservadas cuando se comparan con sus posiciones en los genomas de mamíferos (Fig. 9-24).

¿Qué factores podrían ser responsables de las diferencias de tamaño entre los genomas de vertebrados modernos? Las comparaciones detalladas de muchos genomas han conducido al hallazgo inexplicable de que pequeños bloques de secuencia se están perdiendo y añadiendo a los genomas a una tasa sorprendentemente rápida. Es probable que el genoma de *Fugu* sea tan diminuto debido a que la pérdida de secuencias de DNA es más rápida que su ganancia. Durante períodos largos de tiempo, este desequilibrio resultó una importante "limpieza" de estas secuencias de DNA cuya desaparición podría ser tolerada. En retrospectiva, este proceso fue de una tremenda utilidad para los biólogos: mediante "el recorte de adornos" del genoma de *Fugu*, la evolución ha proporcionado generosamente una versión reducida de un genoma de vertebrado donde las únicas secuencias de DNA que permanecen son las que tengan probablemente funciones importantes.

La conservación de secuencias permite trazar incluso las relaciones evolutivas más distantes

Cuando se retrocede aun más hasta los genomas de parientes más distantes –más allá de monos, ratones, peces, moscas, gusanos, plantas y levaduras, hasta las bacterias– se encuentran pocas semejanzas con nuestro propio genoma. Aun a través de esta enorme división evolutiva, la selección por purificación ha mantenido unos pocos cientos de genes fundamentales en todos los dominios. Mediante la comparación de las secuencias de estos genes en diferentes organismos y al comprobar cuán lejos llegó la divergencia se puede intentar construir un árbol filogenético que siga hacia atrás hasta los últimos ancestros: las células en los orígenes de la vida a partir de las cuales todos derivamos.

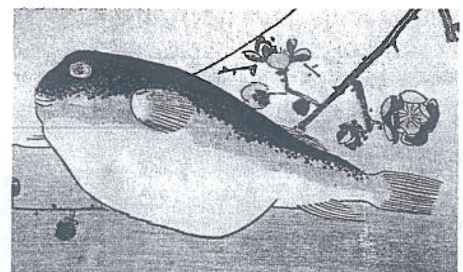


Figura 9-23. El pez globo, *Fugu rubripes*, tiene un genoma extraordinariamente compacto. Con sólo 400 millones de pares de nucleótidos, el genoma del *Fugu* es un cuarto del tamaño del genoma del pez cebra, aun cuando las dos especies tienen casi el mismo número de genes. (De una xilografía de Hiroshige, cortesía de Arts and Designs of Japan).

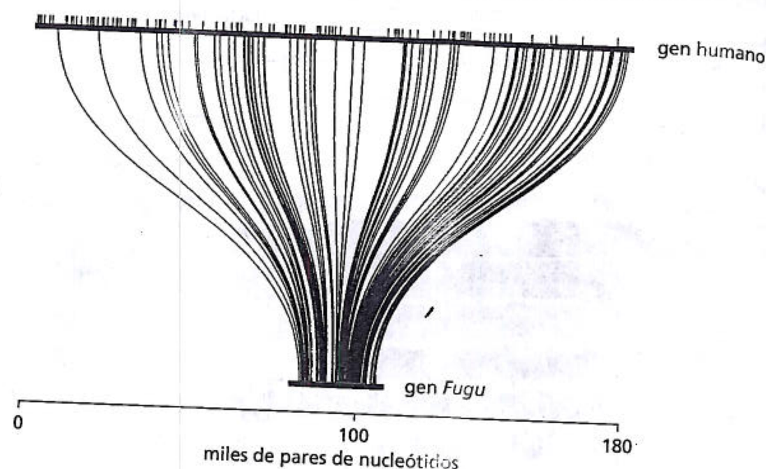


Figura 9-24. Las posiciones de los intrones están conservadas entre *Fugu* y los seres humanos. Comparación de las secuencias de nucleótidos de los genes de ser humano y de *Fugu* que codifican la proteína huntingtin. Ambos genes *(rojo)* contienen 67 exones cortos que se alinean en una correspondencia 1:1 uno en relación con el otro; estos exones se conectan por líneas negras curvas. El gen humano es 7,5 veces más grande que el gen de *Fugu* (180.000 frente a 24.000 pares de nucleótidos) debido enteramente a la presencia de grandes intrones en la secuencia humana. El mayor tamaño de los intrones humanos es en parte debido a la presencia de elementos genéticos móviles cuyas posiciones se representan por barras verticales *azules*. En los seres humanos la mutación del gen huntingtin causa la enfermedad de Huntington, una alteración neurodegenerativa hereditaria. (Adaptado de S. Baxendale y col., *Nat. Genet.* 10:67-76, 1995. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

Para construir este árbol, los biólogos se centraron sobre un gen en particular que está conservado en todas las especies vivientes: el gen que codifica uno de los RNA ribosómicos (rRNA) de la subunidad ribosómica menor (véase Fig.. 7-31). Debido a que el proceso de traducción es fundamental para todas las células vivientes, este componente del ribosoma ha sido bien conservado desde los inicios en la historia de la vida sobre la Tierra (Fig. 9-25).

Mediante la aplicación de los mismos principios utilizados para construir el árbol genealógico de los primates (véase Fig. 9-18), la secuencia nucleotídica del rRNA de la subunidad menor se ha estado utilizando para crear un único árbol que abarque toda la vida (Fig. 9-26). Aunque muchos aspectos de este árbol filogenético fueron anticipados por la taxonomía clásica (que se basa en el aspecto exterior de los organismos), también hubo muchas sorpresas. Quizás, la más importante fue comprender que algunos de los organismos que tradicionalmente fueron clasificados como “bacterias” eran tan ampliamente divergentes en sus orígenes evolutivos como lo es cualquier procarionte de cualquier eucarionte. Como se señaló en el capítulo 1, ahora parece que los procariontes comprenden dos grupos diferentes –las *bacterias* y las *archaea* (o arqueas)– que se han separado temprano en la historia de la vida sobre la Tierra. El mundo viviente, por esta razón, tiene tres divisiones principales o *dominios*: bacteria, archaea y eucarionte (véase Fig. 9-26).

Aunque los seres humanos han clasificado el mundo visible desde la antigüedad, ahora se comprende que la mayor parte de diversidad genética de la vida se encuentra en el mundo de los microbios invisible. Estos organismos han tendido a pasar inadvertidos, a menos que causen enfermedades o descompongan la madera de nuestras casas. Sin embargo, los microorganismos constituyen la mayor parte de la masa total de materia viva de nuestro planeta. Solo en la actualidad, mediante el análisis de las secuencias de DNA, se comenzó a tener un cuadro de la vida sobre la Tierra que no está exageradamente deformado por nuestra perspectiva sesgada como grandes animales vivientes sobre tierra firme.

GTTCCGGGGGGAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAACCTCACCC	ser humano
GCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTTAAAGGAATTGGCGGGGAGCACTACAACGGGTGGAGCCTGCGGTTTAATTGGATTCAACGCCGGGCATCTTACCA	*Methanococcus*
ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC.ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCT	*E. coli*
GTTCCGGGGGGAGTATGGTTGCAAAGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGAAACCTCACCC	ser humano

Figura 9-25. Algo de la información genética se ha conservado desde los comienzos de la vida. Se muestra una parte del gen del rRNA de la subunidad ribosómica menor (véase Fig. 7-31). Los segmentos de nucleótidos que se corresponden a partir de tres especies remotamente relacionadas (*Methanococcus jannaschii*, una archaea; *Escherichia coli*, una bacteria, y *Homo sapiens*, un eucarionte) se alinean paralelos. Los sitios donde los nucleótidos entre las especies son idénticos se indican por un sombreado *verde*; la secuencia humana se repite en la parte inferior de la alineación de modo que puedan verse las tres comparaciones con mayor facilidad. El punto a mitad de camino a lo largo de la secuencia de *E. coli* indica un sitio donde un nucleótido ha sido o bien eliminado del linaje bacteriano en el curso de la evolución, o bien insertado en los otros dos linajes. Obsérvese que las secuencias de estos tres organismos remotamente relacionados han divergido entre sí en un grado casi semejante, mientras que todavía conservan similitudes inconfundibles.

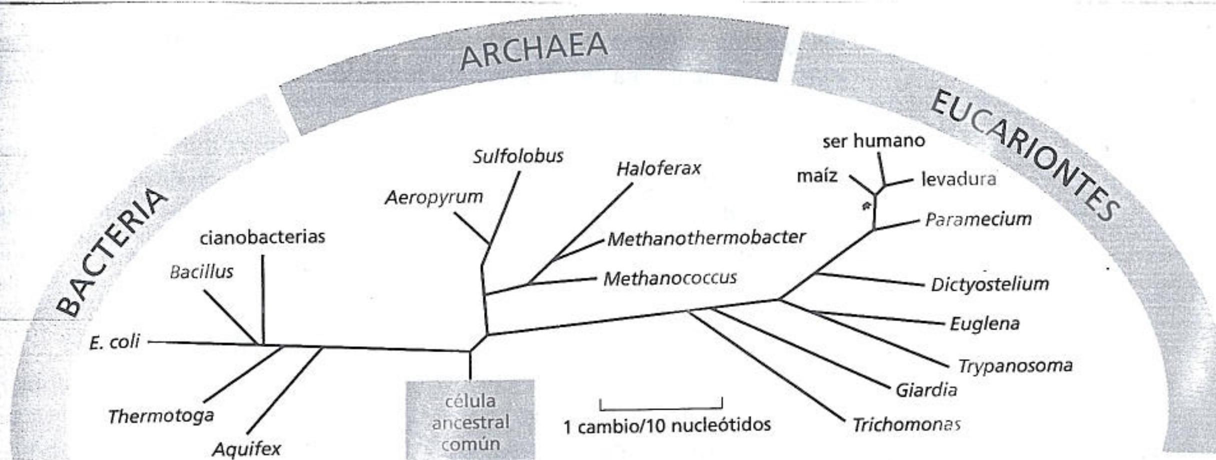


Figura 9-26. El árbol de la vida tiene tres divisiones principales. Cada rama del árbol está marcada con el nombre de un miembro representativo de este grupo y la longitud de las ramas corresponde al grado de diferencia en sus secuencias del rRNA de la subunidad ribosómica menor (véase Fig. 9-25). Obsérvese que todos los organismos que se pueden ver a simple vista (resaltados en amarillo) –animales, plantas y hongos– representan tan sólo un subgrupo pequeño de la diversidad de la vida.

INVESTIGACIÓN DEL GENOMA HUMANO

Se ha visto cómo cambian los genomas a lo largo del tiempo y de qué modo la comparación de los genomas de diferentes especies puede revelar acontecimientos cruciales en sus historias evolutivas. Ahora se analizará nuestro propio genoma, que contiene numerosas pistas acerca de dónde vinimos y quiénes somos.

El genoma humano en su totalidad $-3{,}2 \times 10^9$ pares de nucleótidos– está distribuido en 22 autosomas y 2 cromosomas sexuales. La *secuencia del genoma humano* se refiere a la secuencia nucleotídica completa de DNA contenida en estos 24 cromosomas. Una gran variedad de seres humanos ha contribuido con DNA para el proyecto de secuenciación del genoma, y debido a que los individuos difieren entre sí en un promedio de 1 nucleótido en 1.000, la secuencia del genoma humano publicada está compuesta de muchas secuencias individuales. Representa al mismo tiempo nuestra unidad y nuestra diversidad como especie.

El Proyecto Genoma Humano generó secuencias de nucleótidos sin refinar a una velocidad de 1.000 nucleótidos por segundo, durante veinticuatro horas. La cantidad depurada de información proporcionada por este esfuerzo es asombrosa (Fig. 9-27). Aunque pasarán muchas décadas antes de que toda la información sea analizada, la obtenida hasta el momento ya ha afectado el contenido de cada capítulo en este libro. En esta sección se describirán algunas de las características más importantes de nuestro genoma.


(A)

La secuencia de nucleótidos del genoma humano muestra cómo están organizados nuestros genes

Cuando en 1999 se completó la secuencia del DNA del cromosoma 22 humano, uno de los cromosomas más pequeños, fue posible ver por primera vez exactamente cómo estaban organizados los genes a lo largo de un cromosoma entero de vertebrados (Fig. 9-28). Con la publicación del "primer borrador" de la totalidad


(B)

Figura 9-27. El genoma humano se remonta a nuestros orígenes. Si se dibuja cada par de nucleótido del ancho de 1 mm, la escala en (A), entonces el genoma humano se extendería 3.200 km, lo suficiente como para abarcar el centro de África, el sitio del origen humano (*línea roja* en B). A esta escala habría, en promedio, un gen codificador de proteína cada 130 m. Un gen promedio ocuparía unos 30 m, pero las secuencias codificantes en este gen alcanzarían apenas un poco más de un metro.

del genoma humano en 2001 y la secuencia terminada del borrador en 2004, se obtuvo un panorama general del paisaje genético de todos los cromosomas humanos (Cuadro 9-1).

La primera característica notable del genoma humano es que sólo un bajo porcentaje de éste codifica proteínas, RNA estructurales y RNA catalíticos (Fig. 9-29). La mayor parte del DNA restante está formado de elementos genéticos móviles que gradualmente han colonizado el genoma durante la evolución. Debido a que han acumulado mutaciones, la mayoría de estos elementos no pueden moverse más; en cambio, son reliquias de la primera era evolutiva cuando los movimientos de los elementos genéticos móviles eran muy activos en nuestro genoma.

Una segunda característica destacable del genoma humano es el gran tamaño promedio de un gen con 27.000 pares de nucleótidos. Solo se requieren cerca de 1.300 pares de nucleótidos para codificar una proteína de tamaño promedio (cerca de 430 aminoácidos, en seres humanos). La mayor parte del DNA restante en un gen consiste de largos tramos de DNA no codificante en los intrones entre los exones relativamente cortos que codifican proteínas (véase Fig. 9-28D). Además de los intrones y los exones cada gen se asocia con sus secuencias de DNA regulatorio que aseguran que el gen sea expresado en el nivel y el tiempo apropiados y en el tipo de célula adecuada. En los seres humanos, estas secuencias de DNA reguladoras están diseminadas típicamente a lo largo de cientos de pares de nucleótidos, de las cuales la mayor parte es DNA "espaciador".

Los exones y las secuencias reguladoras comprenden menos del 2% del genoma humano. Incluso a partir de estudios genómicos comparativos, se estima que el 5% del genoma humano se encuentra altamente conservado con otros genomas de mamíferos y por lo tanto es probable que sea importante desde el punto de vista funcional (véase Fig. 9-22). Otra característica sorprendente del genoma humano es su número relativamente pequeño de genes.

PREGUNTA 9-4

Los elementos genéticos móviles, como las secuencias *Alu*, se encuentran en muchas copias en el DNA humano. ¿De qué modos puede la presencia de una secuencia *Alu* afectar a un gen vecino?

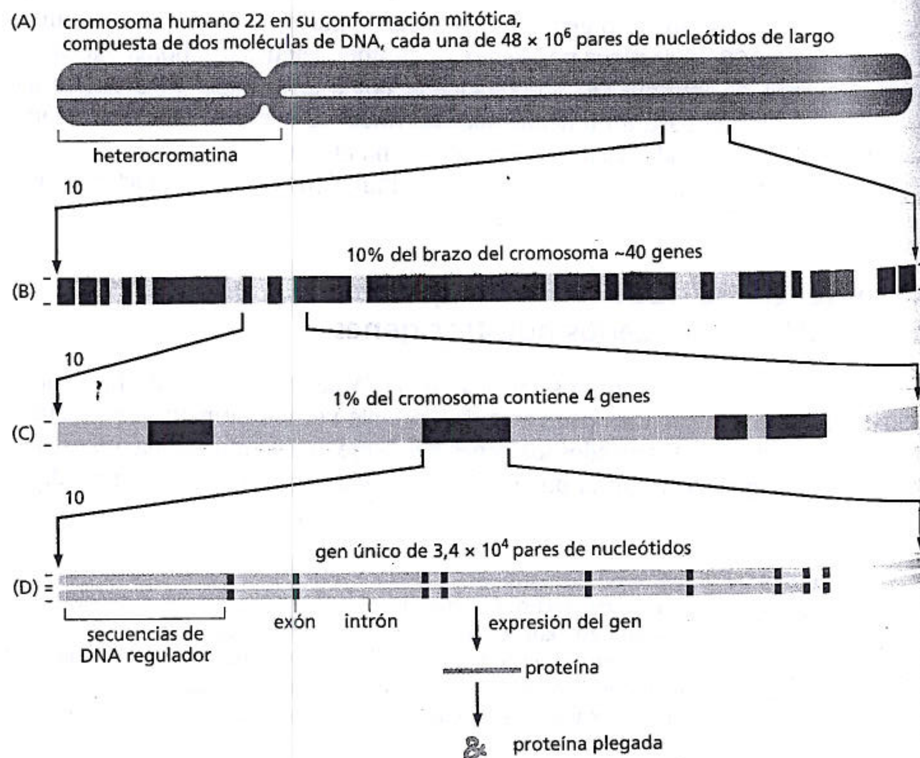


Figura 9-28. La secuencia del cromosoma 22 muestra cómo están organizados los cromosomas humanos. (A) El cromosoma 22, el cromosoma humano más pequeño, contiene 48 × 10^6 pares de nucleótidos y constituyen cerca del 1,5% del genoma humano total. La mayor parte de su brazo izquierdo consiste de secuencias repetidas cortas que están empaquetadas en una forma particularmente compacta de cromatina (heterocromatina), como se describe en el capítulo 5. (B) La ampliación de diez veces de una porción del cromosoma 22 muestra cerca de 40 genes. Los genes conocidos se muestran en *marrón oscuro*; los genes predichos en *rojo*. (C) Una porción ampliada de (B) muestra la longitud total de varios genes. (D) Se muestra la disposición intrón–exón de un gen típico luego de una ampliación adicional de diez veces. Cada exón *(rojo)* codifica una porción de la proteína, mientras que la secuencia de DNA de los intrones *(gris)* carece relativamente de importancia. (Adaptado de The International Human Genome Sequencing Consortium, *Nature* 409:860-921. Con la autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

CUADRO 9-1 ALGUNAS ESTADÍSTICAS ESENCIALES PARA EL GENOMA HUMANO

Longitud del DNA	$3,2 \times 10^9$ pares de nucleótidos*
Número de genes	Aproximadamente 25.000
Gen de mayor tamaño	$2,4 \times 10^6$ pares de nucleótidos
Tamaño de gen promedio	27.000 pares de nucleótidos
Menor número de exones por gen	1
Mayor número de exones por gen	178
Número promedio de exones por gen	10,4
Exón de mayor tamaño	17.106 pares de nucleótidos
Tamaño promedio de exón	145 pares de nucleótidos
Número de seudogenes**	Más de 20.000
Porcentaje de secuencias de DNA en exones (secuencias que codifican proteínas)	1,5%
Porcentaje de secuencias de DNA en otras secuencias altamente conservadas***	3,5%
Porcentaje de DNA en elementos repetitivos de alto número de copias	Aproximadamente 50%

*La secuencia de 2.850 millones nucleótidos es conocida de manera precisa (la tasa de error es de sólo uno en 100.000 nucleótidos aproximadamente). El resto del DNA consiste principalmente de secuencias cortas altamente repetitivas que se encuentran en tándem, con números de repeticiones que difieren de un individuo a otro.

**Un seudogén es una secuencia de nucleótidos de DNA que se asemeja estrechamente a la de un gen funcional, pero que contiene numerosas mutaciones que evitan su expresión adecuada. La mayoría de los seudogenes se originan a partir de la duplicación de un gen funcional seguido por la acumulación de mutaciones dañinas en una copia.

*** Estas secuencias incluyen DNA que codifica 5′ y 3′ UTR (regiones sin traducir de los mRNA), genes de RNA catalíticos y estructurales, DNA regulador y regiones conservadas de función desconocida.

Las primeras estimaciones habían sido de aproximadamente 100.000 (véase Biología experimental, pp. 318–319). Aunque el número exacto todavía no se conoce con precisión, estimaciones revisadas sitúan el número de genes humanos en alrededor de 25.000, lo que nos acerca al número de genes de los organismos multicelulares más simples, como *Drosophila* (14.000) y *C. elegans* (19.000).

Por último, la secuencia de nucleótidos del genoma humano ha revelado que la información crítica que posee parece estar en un alarmante estado de desorganización. Como un comentarista describió nuestro genoma, "En algunos aspectos éste se asemeja a nuestro garaje, dormitorio o nevera: altamente personalizados, pero descuidados; poca evidencia de organización; gran acumulación de desorden (conocida por los no iniciados como "basura"); y los pocos artículos evidentemente valiosos, en apariencia descuidados, e indiscriminadamente dispersos por todas partes".

Cambios acelerados en las secuencias conservadas del genoma ayudan a revelar lo que nos convierte en seres humanos

Tan pronto como estuvieron disponibles las secuencias del genoma de ser humano y chimpancé, los científicos comenzaron a buscar cambios en la secuencia de

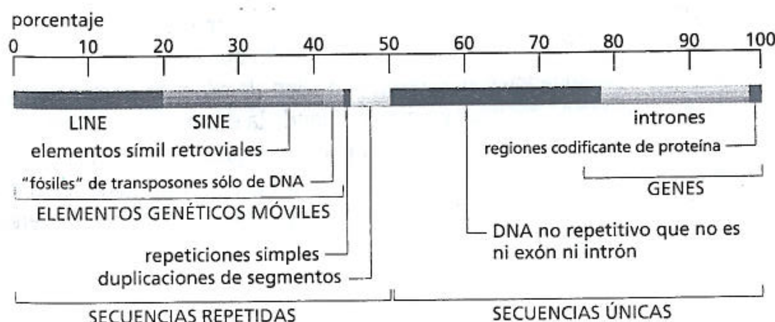


Figura 9-29. La mayor parte del genoma humano está construido con secuencias nucleotídicas repetitivas no codificantes. Las LINE, SINE, los transposones símil retrovirales y los transposones de sólo DNA son elementos genéticos móviles que se han multiplicado en nuestro genoma al replicarse por sí mismos e insertar las copias nuevas en diferentes posiciones. Estos elementos genéticos móviles se analizan en el capítulo 6 (pp. 222-223). Las repeticiones simples son secuencias nucleotídicas cortas (menos de 14 pares de nucleótidos) que se repiten una y otra vez por largos fragmentos. Las duplicaciones de segmentos son grandes bloques del genoma (1.000–200.000 pares de nucleótidos) que están presentes en dos o más localizaciones en el genoma. Las únicas secuencias que no son parte de intrones y exones (*verde oscuro*) incluyen elementos génicos reguladores, como así también secuencias cuyas funciones se desconocen. Los bloques más altamente repetitivos del DNA en la heterocromatina aún no han sido secuenciados en forma completa; por lo tanto alrededor del 10% de las secuencias de DNA humano no se encuentran representadas en este esquema (Cortesía de E. H. Margulies).

CONTAR GENES

¿Cuántos genes se requieren para formar un ser humano? Esta parece una pregunta natural. Si 6.000 genes pueden producir una levadura y 14.000 una mosca, ¿cuántos se requieren para codificar lo que será un ser humano, una criatura compleja, curiosa y lo suficientemente inteligente como para estudiar su propio genoma? Hasta que no fue completado el primer borrador de la secuencia del genoma humano, la cifra citada con más frecuencia era 100.000. Pero, ¿de dónde viene esta cantidad? y ¿cómo derivó la estimación revisada en sólo 25.000 genes?

Walter Gilbert, físico dedicado a la biología molecular, que ganó un premio Nobel por desarrollar las técnicas de secuenciación del DNA, fue uno de los primeros en presentar un cálculo aproximado de la estimación del número de genes humanos. A mediados de la década de 1980, Gilbert sugirió que los seres humanos podríamos tener 100.000 genes, una estimación basada en el tamaño promedio de unos pocos genes humanos conocidos hasta el momento (aproximadamente 3×10^4 pares de nucleótidos) y el tamaño de nuestro genoma (3×10^9 pares de nucleótidos). Este respaldo sobre el cálculo produjo un número tan redondo que dio lugar a su cita en artículos y libros de texto.

El cálculo proporciona una estimación del número de genes que un ser humano podría tener en principio, pero no resuelve la pregunta de cuántos genes tenemos en realidad. Se deduce que la pregunta no es demasiado fácil de responder, incluso con la secuencia del genoma humano completo en la mano. El problema es, ¿cómo se identifica un gen? En el capítulo 5 se vio que los genes se definen como regiones del DNA que determinan las características de una célula u organismo, y que estos segmentos de DNA generalmente codifican una proteína o RNA funcional. Ahora se sabe que estos segmentos codificantes abarcan sólo un bajo porcentaje del genoma humano. Entonces, al observar en una determinada parte de una secuencia general del DNA –una cadena aparentemente aleatoria de A, T, G y C– ¿cómo se puede decir qué parte son genes y qué parte es "basura"? Se debe ser capaz de distinguir con precisión y exactitud las secuencias codificantes en un genoma antes de localizar y contar sus genes.

Señales y pedazos

Como siempre, la situación es más simple en procariontes y en eucariontes simples como en las levaduras. Para identificar genes en este genoma, esencialmente se busca en la secuencia de DNA entera tratando de hallar los **marcos abiertos de lectura** (ORF). Estas son secuencias largas –es decir, 100 codones o más– que carecen de codones de terminación. Una secuencia de nucleótidos al azar tendrá la posibilidad de codificar una señal de terminación para la síntesis de proteínas aproximadamente una vez cada 20 codones (debido a que hay tres codones de terminación en el grupo de 64 codones posibles). Entonces, encontrar un ORF, una secuencia de nucleótidos continua que codifique más de 100 aminoácidos, es la primera etapa en la identificación de un buen candidato para un gen presuntivo. Actualmente se emplean programas informáticos para buscar estos ORF, que comienzan con un codón de iniciación, generalmente ATG, y finalizan con un codón de terminación TAA, TAG o TGA (Fig. 9-30).

En animales y plantas el proceso de identificación de ORF es complicado por la presencia de secuencias de intrones de gran tamaño que interrumpen las porciones codificantes de los genes. Como se ha visto, estas secuencias son generalmente mucho más grandes que los mismos exones, que podrían representar solo un bajo porcentaje del gen. En el DNA humano los exones a veces contienen tan pocos como 50 codones (150 pares de nucleótidos), mientras que los intrones podrían exceder los 10.000 pares de nucleótidos de longitud. Cincuenta codones es demasiado poco para generar una "señal ORF" estadísticamente significativa debido a que no es del todo inusual para 50 codones al azar carecer de una señal de terminación. Más aun, los intrones son tan largos que probablemente contengan por casualidad bastante "ruido ORF," numerosos tramos de la secuencia que carecen de señales de terminación. Hallar los ORF verdaderos en este mar de información en el que el "ruido" a menudo tiene más peso que la "señal" es bastante difícil. Por lo tanto, para identificar genes en el DNA eucarionte también es necesario buscar otras características distintivas que marquen la presencia de un gen: las secuencias de corte y empalme que indican el límite intrón–exón (véase Fig. 7-19) o secuencias características de DNA regulatorio que se localizan corriente arriba de un gen.

Uno de los enfoques más poderosos para identificar genes es la homología con genes a partir de otros organismos. Por ejemplo, incluso una secuencia ORF muy corta es probable que sea un exón si la secuencia de aminoácidos que ésta codifica coincide con una proteína conocida de otro organismo. Además, si un presunto ORF está altamente conservado en varios genomas diferentes, es muy probable que codifique una proteína, incluso cuando el gen que contiene todavía no haya sido identificado o estudiado. Mediante estas comparaciones (p. ej., ser humano versus ratón versus pez cebra) es posible identificar ORF cortos cuya función se desconoce y, con más trabajo, se los puede agrupar en genes enteros.

En 1992 Craig Venter y col. utilizaron un programa informático para predecir las regiones que codifican proteínas en los datos de secuencia humana preliminares. Los investigadores hallaron dos genes en un segmento de 58.000 pares de nucleótidos del cromosoma 4, y cinco genes en un segmento de 106.000 pares de nucleótidos del cromosoma 19. Se calcula un promedio de un gen cada 23.000 pares de nucleótidos. Al extrapolar desde esa densidad al genoma entero daría que los seres humanos tienen casi 130.000 genes. Sin embargo, resultó que los cromosomas que los investigadores analizaron se habían elegido para secuenciar porque parecían ser ricos en genes. Cuando la estimación se ajustó teniendo en cuenta las regiones pobres en genes del genoma humano –en el supuesto de que la mitad del genoma humano tenía quizás un décimo de la densidad de genes– el número descendió a 71.000.

Apareamiento de marcas o etiquetas

Por supuesto, estas estimaciones se basan en lo que pensamos que los genes parecen; sin embargo, todavía estamos aprendiendo a reconocerlos. Una aproximación diferente pero complementaria del conteo de las regiones codificantes en un genoma involucra la determinación experimental de cuántos genes se expresan en realidad.

Para determinar qué genes se expresan en un tipo celular o tejido en particular, se aíslan mRNA y se los convierte en DNA complementario, o cDNA (comentado en el cap. 10). Debido a que los mRNA se producen mediante transcripción y corte y empalme a partir de los genes que codifican proteínas, esta colección de cDNA representa las secuencias de todos los genes que se están expresando en las células a partir de las que se preparó el mRNA. Los cDNA se preparan a partir de una variedad de tejidos debido a que el objetivo de este enfoque es identificar cada gen, y diferentes tejidos expresan diferentes genes. Un beneficio adicional al trabajar con cDNA proviene del hecho de que los mRNA carecen de intrones y los segmentos de DNA que se localiza entre los genes; por lo tanto, las secuencias de cDNA corresponden directamente a las secuencias codificantes en el genoma.

Fragmentos cortos de estos cDNA, denominados *marcas de secuencias expresadas* o EST, luego son secuenciados; las secuencias EST resultantes se comparan con las secuencias de nucleótidos del genoma entero para localizar el gen que corresponde a cada EST. Mediante un cuidadoso análisis del modo en que los EST trazan un mapa en el genoma humano los investigadores llegaron a una estimación aproximada de 24.000 genes que codifican proteínas.

Cuenta regresiva de los genes humanos

En la actualidad, la aproximación más apropiada para predecir genes combina diferentes tipos de datos, entre ellos 1) análisis de EST, 2) búsquedas informáticas del genoma para los ORF y para secuencias que señalan los sitios de corte y empalme en los extremos de cada exón y 3) comparaciones con secuencias del genoma de otros organismos, especialmente de otros mamíferos. Este último enfoque es particularmente poderoso debido a que, como se ha visto en este capítulo, los genomas de mamífero son lo suficientemente divergentes como para que solo las partes más críticas de sus genomas –los exones y las secuencias reguladoras, p. ej. sean similares (véase Fig. 9-22).

Aunque las estimaciones convergen todas en alrededor de 24.000 a 25.000, podrían pasar algunos años antes de tener la respuesta final sobre cuántos genes se requieren para constituir un ser humano. Dado que los métodos informáticos avanzan y se recolectan más datos sobre el genoma humano y las secuencias de los genomas de otros organismos se puede mejorar nuestra capacidad para predecir dónde residen los genes dentro de una secuencia de DNA. Sin embargo, conocer el número exacto de genes no es tan importante como comprender las funciones de cada uno y el modo en que interactúan con otros genes para formar un ser humano. Estas son preguntas centrales que probablemente ocuparán a los biólogos al menos durante el siglo actual.

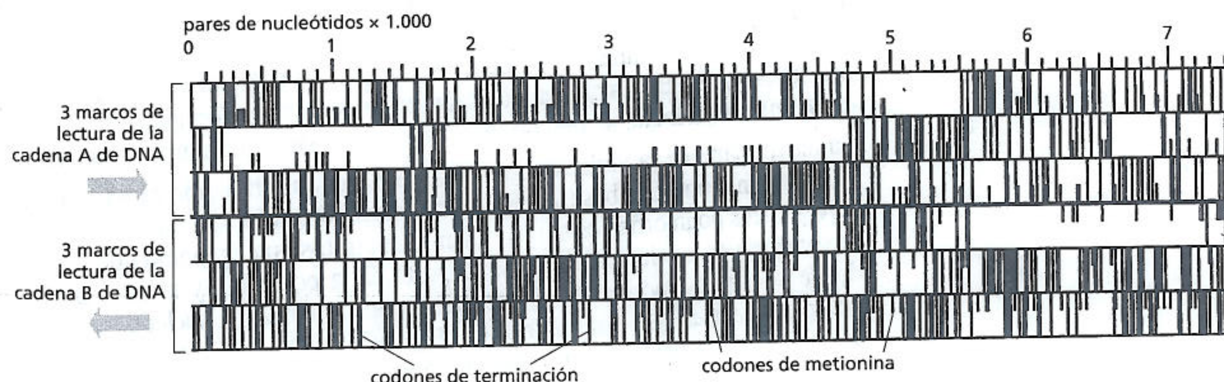


Figura 9-30. Programas informáticos que se utilizan para encontrar genes. En este ejemplo, una secuencia de DNA de 7.500 pares de nucleótidos de la levadura patógena *Candida albicans* se colocó en un ordenador, que luego tradujo la secuencia entera en los seis marcos abiertos de lectura (ORF) posibles, tres a partir de cada cadena (véase Fig. 7-25). El resultado despliega cada marco de lectura como una columna horizontal, con los codones de terminación (TGA, TAA y TAG) marcados por líneas verticales más largas y los codones de metionina (ATG) marcados por las líneas más cortas. Pueden identificarse con claridad cuatro ORF *(amarillo)* por la ausencia estadísticamente significativa de codones de terminación. Para cada ORF, el presunto codón de iniciación (ATG) se indica en *rojo*. Los codones ATG adicionales en los ORF codifican metionina.

DNA que podrían servir para las notables diferencias entre nosotros y ellos. Dentro de los 3.000 millones de pares de nucleótidos que existen para comparar en las dos especies, esto podría parecer una tarea imposible. Pero, el trabajo se hizo mucho más fácil al confinar la búsqueda a las secuencias que son altamente conservadas a través de múltiples especies de mamíferos (véase Fig. 9-22), representando partes del genoma que son más probables de ser importantes desde el punto de vista funcional. Aunque estas secuencias son conservadas, no son idénticas: cuando la versión en una especie se compara con la de otra, suelen encontrarse separadas por una pequeña cantidad que corresponde simplemente al tiempo transcurrido desde el último ancestro común. En una proporción pequeña de casos, se pueden ver signos de un brote evolutivo repentino. Por ejemplo, se encuentra que algo de las secuencias de DNA que son altamente conservadas en otras especies de mamíferos han cambiado excepcionalmente rápido durante los seis millones de años de evolución humana desde que divergimos de los chimpancés. Se cree que *esas regiones humanas aceleradas* reflejan funciones que fueron especialmente importantes en tornarnos diferentes en algunas formas útiles.

En un estudio se identificaron 50 de esos sitios, un cuarto se localizaron cerca de genes asociados con el desarrollo neural. La secuencia que exhibía el cambio más rápido (18 cambios entre seres humanos y chimpancé, en comparación con solo dos cambios entre chimpancé y gallinas) fue posteriormente analizada y se encontró que codificaba una molécula corta de RNA no codificante que se produce en la corteza cerebral humana en el momento crítico durante el desarrollo cerebral. Aunque todavía no se conoce la función de este RNA, este descubrimiento excitante estimula el emprendimiento de estudios que arrojarán luz sobre las características del cerebro que distingue a los seres humanos de las especies estrechamente relacionadas.

La variación genética dentro del genoma humano contribuye a nuestra individualidad

A excepción de los gemelos, dos personas no tienen exactamente el mismo genoma. Cuando se compara la misma región del genoma de dos seres humanos diferentes, la secuencia de nucleótidos típicamente difiere en alrededor del 0,1%. Esto podría parecer un grado de variación insignificante, pero considerando el tamaño del genoma humano se establece una cifra de unos 3 millones de diferencias genéticas en cada juego de cromosomas maternos o paternos entre una persona y la siguiente. El análisis detallado de los datos en la variación genética humana sugiere que la mayor parte de esta variación ya estaba presente temprano en nuestra evolución, quizás 100.000 años atrás, cuando la población humana todavía era pequeña. Esto significa que gran parte de la variación genética que poseemos, en la actualidad, se heredó de nuestros ancestros humanos primitivos.

La mayor parte de la variación genética en el genoma humano toma la forma de cambios en una sola base denominados **polimorfismos de un solo nucleótido** (SNP). Estos polimorfismos son simplemente puntos en el genoma que difieren en la secuencia de nucleótidos entre una parte de la población y la otra, posiciones donde una gran fracción de la población tiene un par de nucleótidos G–C, por ejemplo, mientras que otra tiene A–T (**Fig. 9-31**). Dos genomas humanos elegidos al azar de la población mundial diferirán en alrededor de $2,5 \times 10^6$ SNP que se encuentran diseminados a través de todo el genoma. Debido a que los SNP están presentes en esta alta densidad proporcionan marcadores útiles en el análisis genético en los que se intenta relacionar un rasgo específico (como susceptibilidad a una enfermedad) con un patrón particular de SNP (como se describió en el capítulo 19). Este tipo de análisis debería conducir a mejoras de la atención sanitaria ya que le permite determinar a los médicos si un individuo es susceptible a una enfermedad, como la enfermedad coronaria, mucho antes de que se manifiesten los síntomas. Así, la persona puede cambiar su comportamiento para ayudar a prevenir la enfermedad antes de que se origine.

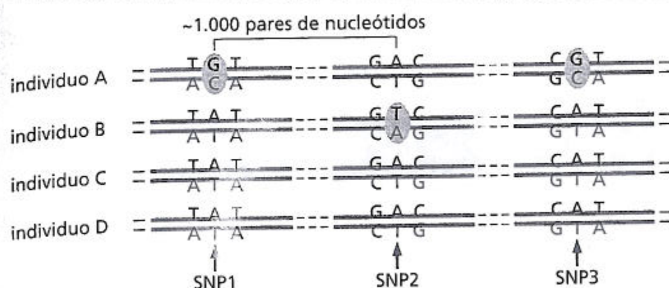


Figura 9-31. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son secuencias en el genoma que difieren por un único par de nucleótidos entre una porción de la población y otra. La mayoría, pero no toda, de los cambios en el genoma humano se producen en regiones donde no afectan la función de un gen.

Otra fuente importante de variación heredada de nuestros ancestros es la duplicación y deleción de largos segmentos de DNA. Cuando se compara el genoma de cualquier persona con el genoma de referencia estándar, se observa apenas 100 diferencias que involucran segmentos largos de secuencia. Algunas de estas diferencias son muy comunes, mientras que otras están presentes en solo una pequeña proporción de personas. A partir de un muestreo inicial, casi la mitad de estas secuencias contienen genes nuevos. En retrospectiva, este tipo de variación no es sorprendente, dada el gran antecedente de adición y pérdida de DNA en los genomas de vertebrados analizados anteriormente. Sin embargo, continúa siendo un misterio en qué medida contribuyó a nuestra individualidad.

Además de los SNP y las duplicaciones y deleciones que heredamos de nuestros ancestros, los seres humanos poseemos secuencias nucleotídicas repetitivas que son particularmente propensas a nuevas mutaciones. Por ejemplo las repeticiones CA, son ubicuas en el genoma humano. Las secuencias de nucleótidos que contienen grandes números de repeticiones CA se replican en forma imprecisa (imagine tratar de copiar una palabra que es nada más que un concatenado de CACACACACACACA...); en consecuencia, el número preciso de repeticiones puede variar enormemente de un individuo al otro. Debido a que muestran esta variabilidad excepcional y a que esta variabilidad ha surgido tan recientemente, estas repeticiones CA y otras, los tornan marcadores genéticos ideales para las diferencias entre seres humanos individuales. Las diferencias en la cantidad de CA y otros tipos de repeticiones en distintas posiciones en el genoma se utilizan para identificar individuos mediante el análisis de huella digital de DNA en las investigaciones de crímenes, litigios por paternidad y otras aplicaciones forenses (Fig. 10-19).

La mayor parte de las variaciones comunes en la secuencia del genoma humano son genéticamente silenciosas, en la medida que se encuentran dentro de secuencias de DNA en regiones no críticas del genoma. Estas variaciones no tienen efectos sobre la forma o el funcionamiento de las células. Esto significa que sólo un pequeño subgrupo de las variaciones que se observan en nuestro DNA es responsable de casi todas las diferencias heredables de la individualidad humana. Como se comenta en el capítulo 19, uno de los principales desafíos en la genética humana es aprender a reconocer las pocas variaciones que son funcionalmente importantes contra el gran trasfondo de variación neutral.

PREGUNTA 9-5

Usted está interesado en encontrar la función de un gen particular en el genoma murino. Usted ha determinado la secuencia nucleotídica del gen, definido la porción que codifica su producto proteico y buscado en la base de datos secuencias similares; sin embargo, ni el gen ni la proteína codificada se asemejan a algo previamente descrito. ¿Qué tipos de información adicional sobre el gen o la proteína codificada le gustaría conocer con el objetivo de estrechar las posibles funciones, y por qué? Enfóquese en la información que usted desea, en lugar de las técnicas que podría utilizar para obtener esa información.

El genoma humano contiene abundante información que aún debe ser descifrada

Aún con la secuencia del genoma humano en la mano muchas preguntas continuarán desafiando a los biólogos celulares en este siglo. Quizás la más misteriosa es la siguiente: dado que un ser humano, un chimpancé y un ratón tienen esencialmente los mismos genes y en consecuencia las mismas proteínas, ¿qué es lo que produce que estas criaturas sean tan diferentes entre sí?

La respuesta parece que vendrá en gran parte de los estudios de regulación génica. Las proteínas codificadas en el genoma son como componentes de una herramienta de construcción. Mediante el ensamblado de componentes en diferentes combinaciones se pueden construir muchas cosas diferentes con la misma herra-

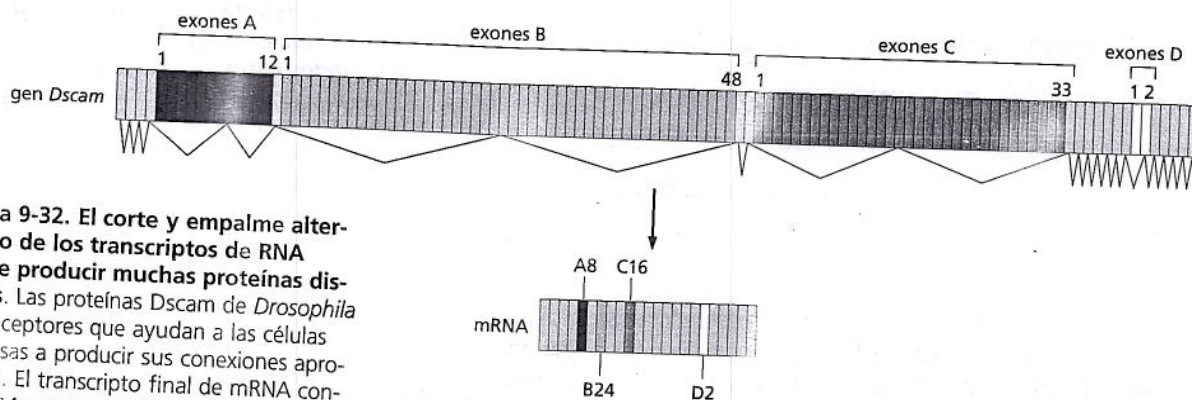


Figura 9-32. El corte y empalme alternativo de los transcriptos de RNA puede producir muchas proteínas distintas. Las proteínas Dscam de *Drosophila* son receptores que ayudan a las células nerviosas a producir sus conexiones apropiadas. El transcripto final de mRNA contiene 24 exones, cuatro de los cuales (indicados como A, B, C y D) están presentes en el gen *Dscam* como series de exones alternativos. Cada mRNA maduro contiene de 1 a 12 alternativas para el exón A *(rojo)*, de 1 a 48 alternativas para el exón B *(verde)*, de 1 a 2 alternativas para el exón D *(amarillo)*, y la totalidad de los 19 exones que no varían *(gris)*. Si se utilizaran todas las combinaciones posibles de corte y empalme, en principio se producirían 38.016 proteínas diferentes a partir del gen *Dscam*. Se muestra uno de los muchos patrones posibles de corte y empalme (indicado por la *línea magenta)* y el mRNA maduro producido (Adaptado de D.L. Black, *Cell* 103:367-370, 2000. Con autorización de Elsevier).

mienta. Al final, sin embargo, la forma general del objeto es determinada por las instrucciones que indican cómo son puestos en conjunto los componentes.

En gran medida las instrucciones necesarias para producir un animal multicelular están contenidas en el DNA regulador no codificante que se asocia con cada gen. Como se señaló en el capítulo 8, este DNA contiene, dispersos dentro de él, docenas de elementos reguladores separados –segmentos de DNA cortos que sirven como sitios de unión para reguladores de la transcripción específicos. Este DNA regulatorio define el programa secuencial del desarrollo: las reglas que las células siguen a medida que proliferan, alcanzan su posición en el embrión y en consecuencia activan nuevos grupos de genes.

Aunque las comparaciones entre muchas especies diferentes son un camino poderoso para precisar las secuencias reguladoras clave en un vasto exceso de DNA no importante, se sigue sin saber cómo leer estas secuencias de manera precisa. Por ejemplo, los diferentes reguladores de la transcripción pueden unirse al mismo segmento de DNA, por lo tanto, conocer esta secuencia de DNA no es suficiente para especificar qué proteínas podrían regular realmente al gen. Además, el hecho de que el control de la expresión génica ocurra en forma compleja y combinatoria (véase Fig. 8-22) dificulta el intento de descifrar en qué momento del desarrollo y en qué tipo de células se expresa cada gen.

Otro desafío en la interpretación de la información codificada en el genoma humano viene de la prevalencia del corte y empalme alternativo. Se sabe que la mayoría de los genes humanos experimentan corte y empalme, permitiendo a las células producir una gama de proteínas relacionadas pero distintas a partir de un único gen (Fig. 7-21). Con frecuencia, este corte y empalme es regulado de modo que una forma de proteína es producida en un tipo de tejido, mientras que otras formas son producidas preferencialmente en otros tejidos. En un caso extremo, en *Drosophila*, un único gen puede producir tanto como 38.000 variantes de proteínas diferentes a través de corte y empalme alternativo (**Fig. 9-32**). Por lo tanto, un organismo puede producir muchos más productos proteicos de los genes que tiene. Todavía no se sabe lo suficiente sobre la biología del corte y empalme para predecir con exactitud qué genes humanos están sujetos a este proceso y cuándo y dónde en el desarrollo podría producirse esa regulación. Sin embargo, parece ser que el corte y emplame alternativo es, en especial, predominante en el encéfalo en desarrollo.

Una incertidumbre en la interpretación del genoma humano son las funciones precisas de los microRNA (véanse pp. 290-291). Descubiertos recientemente, estos RNA cortos regulan tanto como un tercio de todos los genes humanos, incluso unos pocos de ellos han sido estudiados en detalle. Finalmente, aunque se estima que el 1,5% del genoma humano codifica proteínas, un 3,5% adicional es altamente conservado cuando se compara con otros genomas de mamífero, y por lo tanto se presume que es importante (véase p. 312). Una parte de este DNA conservado produce moléculas de RNA de función conocida y una parte es DNA regulador; el resto sigue siendo un misterio.

El cuerpo humano se forma como resultado de complejas secuencias de decisiones que las células toman a medida que proliferan y se especializan durante nuestro desarrollo: qué moléculas de RNA y qué proteínas se sintetizarán en el momento, lugar y cantidad que se deba producir. La información para todas estas decisiones está contenida dentro de la secuencia del genoma humano, pero recién se está comenzando a aprender cómo leer este tipo de código. Descifrar esta información es uno de los grandes desafíos para la siguiente generación de biólogos celulares.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Al comparar las secuencias nucleotídicas o aminoacídicas de los organismos contemporáneos se está comenzando a reconstruir cómo han evolucionado los genomas en los miles de millones de años que transcurrieron desde la aparición de las primeras células.
- La variación genética –la materia prima para el cambio evolutivo– se produce por una variedad de mecanismos que alteran las secuencias de nucleótidos de los genomas. Estos cambios abarcan desde mutaciones puntuales simples hasta duplicaciones y reordenamientos a gran escala.
- Los cambios genéticos que ofrecen a un organismo una ventaja selectiva o los selectivamente neutrales son los que tendrán más probabilidad de perpetuarse. Los cambios que comprometen gravemente la adaptación de un organismo son eliminados mediante selección natural.
- La duplicación génica es una de las fuentes más importantes de diversidad genética. Una vez que un gen ha sido duplicado, las dos copias pueden acumular diferentes mutaciones y, por lo tanto, diversificarse hasta realizar diferentes funciones. Durante el tiempo evolutivo, ciclos repetidos de esas duplicaciones y divergencias pueden llevar a la creación de grandes familias génicas.
- Se piensa que la evolución de nuevas proteínas ha sido facilitada enormemente por el intercambio de exones entre genes que crea proteínas híbridas con funciones nuevas.
- El genoma humano contiene $3{,}2 \times 10^9$ pares de nucleótidos divididos entre 22 autosomas y 2 cromosomas sexuales. Solo un bajo porcentaje del DNA codifica proteínas o RNA catalíticos, estructurales o reguladores.
- Los seres humanos difieren entre sí en un promedio de 1 nucleótido por cada 1.000; en esta variación subyace nuestra individualidad y proporciona las bases para las identificaciones individuales mediante análisis de DNA.
- La comparación de las secuencias de genomas de diferentes especies proporciona una herramienta valiosa para la identificación de genes y para destacar otras partes del genoma importantes desde el punto de vista funcional.
- Debido a que especies relacionadas (como ser humano y ratón) comparten muchos genes en común, los cambios evolutivos que afectan la regulación de estos genes son de especial importancia en la comprensión de las diferencias entre especies.

PALABRAS CLAVE

árbol filogenético
barajado o reordenamiento de exones
célula germinal
célula somática
divergencia
duplicación génica y divergencia
gen homólogo
línea germinal
marco abierto de lectura (ORF)
mutación puntual
polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)
selección por purificación
sintenía conservada
transferencia génica horizontal

PREGUNTAS

PREGUNTA 9-6

Analice la siguiente afirmación: "Los elementos genéticos móviles son parásitos. Son perjudiciales para el organismo hospedador y por esta razón lo sitúan en desventaja evolutiva".

PREGUNTA 9-7

El cromosoma humano 22 (48 Mb de longitud) tiene aproximadamente 700 genes que codifican proteínas, con un promedio de 19.000 pares de nucleótidos de longitud y con alrededor de 5,4 exones, cada uno con un promedio de 266 pares de nucleótidos. ¿Qué fracción del gen promedio es convertido a mRNA? ¿Qué fracción del cromosoma ocupan los genes?

PREGUNTA 9-8

(Verdadero/Falso). Se piensa que la mayor parte del DNA humano es basura sin importancia. Explique su respuesta.

PREGUNTA 9-9

Los elementos genéticos móviles constituyen casi la mitad del genoma humano y están insertados más o menos al

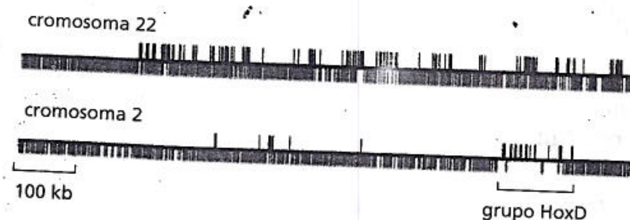


Figura P9-9

azar a lo largo del genoma. Sin embargo, en algunos puntos estos elementos son poco frecuentes, como se representa para el grupo de genes que se denominan HoxD sobre el cromosoma 2 (Fig. P9-9). Este grupo tiene cerca de 100 kb en longitud y contiene 9 genes, cuya expresión diferencial a lo largo del eje anteroposterior del embrión establece el plan corporal básico de seres humanos (y otros animales). ¿Por qué supone que los elementos genéticos móviles son tan poco frecuentes en este grupo?
En la figura Q9-9 las líneas que se proyectan *hacia arriba* indican exones de genes conocidos. Las líneas que se proyectan *hacia abajo* indican elementos genéticos móviles; ellos son tan numerosos que se fusionan en un bloque casi sólido por fuera de los grupos Hox. Para su comparación se muestra una región equivalente sobre el cromosoma 22.

PREGUNTA 9-10

Uno de los primeros métodos gráficos para la comparación de secuencias de nucleótidos denominada representación diagonal aún hoy genera una de las mejores comparaciones visuales de secuencias relacionadas. En la figura P9-10 se ilustra un ejemplo, en el que el gen humano de la globina se compara con el cDNA humano para la β–globina (que contiene solamente la porción codificante del gen; Fig. P9-10A) y para el gen murino de la β–globina (Fig. P9-10B). Las representaciones diagonales se generan mediante la comparación de bloques de secuencia, en este caso bloques de 11 nucleótidos a la vez. Si 9 o más de los nucleótidos se aparean, se coloca un punto sobre el esquema en las coordenadas que corresponden a los bloques que se están comparando. Una comparación de todos los bloques posibles genera representaciones como las que se muestran en la figura P9-10, cuyas secuencias de homologías se muestran como líneas diagonales.

A. A partir de la comparación del gen de la β–globina con el cDNA de la β–globina humana (Fig. P9-10A) deduzca las posiciones de los exones y de los intrones en el gen de la β–globina.

B. ¿Los exones enteros del gen de la β–globina humana (indicados por sombreados en la figura P9–10B) son similares a los del gen murino de la β–globina? Identifique y explique las posibles diferencias claves.

C. ¿Existe algún tipo de similitud de secuencia entre los genes de la β–globina del ser humano y del ratón que se localice fuera de los exones? De ser así, identifique su localización y ofrezca una explicación para su preservación durante la evolución.

D. ¿Los genes humanos o murinos han experimentado un cambio en la longitud del intrón durante la divergencia evolutiva? ¿Cómo puede explicarlo?

PREGUNTA 9-11

Su asesora, una experto en bioinformática, tiene elevada estima sobre su intelecto y laboriosidad. Ella le sugiere que escriba un programa de computación que identifique los

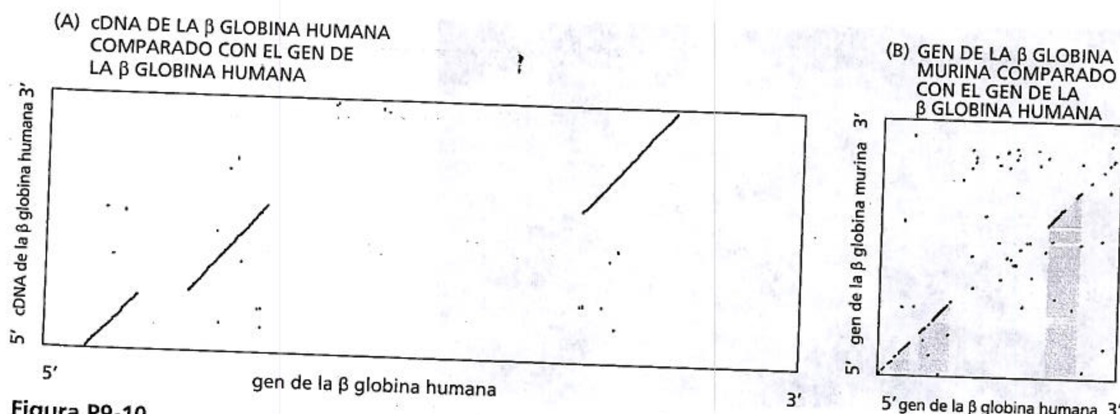


Figura P9-10

exones de los genes que codifican proteínas directamente a partir de la secuencia del genoma humano. Para esa tarea usted decide escribir una lista de características que puedan distinguir las secuencias codificantes de proteínas del DNA intrónico y de otras secuencias en el genoma. ¿Cuáles son las características que enumeraría? (Puede revisar los aspectos básicos de la expresión génica en el capítulo 7).

PREGUNTA 9-12

¿Por qué espera encontrar un codón de terminación aproximadamente cada 20 codones, o casi, en promedio en una secuencia al azar de DNA?

PREGUNTA 9-13

El código genético (véase Fig. 7-24) relaciona la secuencia de nucleótidos del mRNA con la secuencia de aminoácidos de las proteínas codificadas. Puesto que el código fue descifrado cuatro décadas atrás, algunos autores afirmaron que debe ser un accidente único, es decir, el sistema al azar se formó en algún organismo ancestral y luego fue perpetuado sin cambios a través de toda la evolución; mientras que otros argumentaron que fue modelado por selección natural.

Una característica notable del código genético es su resistencia heredada a los efectos de la mutación. Por ejemplo, un cambio en la tercera posición de un codón a menudo especifica el mismo aminoácido o uno con similares propiedades químicas. Pero, ¿es el código natural más resistente a la mutación que otras versiones posibles? La respuesta es un categórico "sí," como se ilustró en la figura P9-13. Solo uno en un millón de códigos generados por computación "al azar" es más resistente al error que el código genético natural. ¿La extraordinaria resistencia a la mutación del código genético argumenta a favor de su origen como un accidente único o como resultado de selección natural? Explique sus razonamientos.

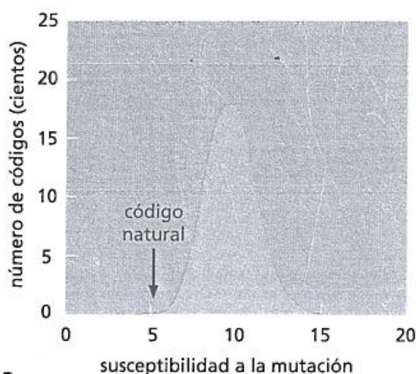


Figura P9-13

PREGUNTA 9-14

¿Cuál de los procesos enumerados abajo se piensa que NO contribuyen de manera significativa a la evolución de nuevos genes que codifican proteínas?

A. Duplicación de genes que crean copias extras y pueden adquirir una nueva función.

B. Formación de nuevos genes de *novo* a partir de DNA no codificante en el genoma.

Gen	Aminoácidos	Tasas de cambio	
		No sinónimas	Sinónimas
Histona H3	135	0	4,5
Hemoglobina α	141	0,6	4,4
Interferón γ	136	3,1	5,5

Las tasas fueron determinadas por comparación de secuencias de rata y ser humano y expresadas como cambios nucleotídicos por sitio por 10^9 años. La tasa promedio de cambios no sinónimos por varias docenas de genes de rata y de ser humano es alrededor de 0,8.

C. Transferencia horizontal de DNA entre las células de diferentes especies.

D. Mutación de genes existentes que crean nuevas funciones.

E. Mezclado de dominios proteicos mediante reordenamiento génico.

PREGUNTA 9-15

Algunos genes evolucionan más rápidamente que otros. Pero ¿cómo se puede demostrar esto? Un enfoque es comparar varios genes a partir de las mismas dos especies, como se muestra para la rata y el ser humano en el cuadro de la parte superior. En el cuadro se indican dos medidas de las tasas de sustitución de nucleótidos. Los cambios que no son sinónimos se refieren a cambios en un solo nucleótido en la secuencia del DNA que altera el aminoácido codificado (p. ej., ATC → TTC, que da isoleucina fenilalanina). Los cambios sinónimos se refieren a los que no alteran el aminoácido codificado (p. ej., ATC → ATT, que da isoleucina isoleucina). Como es evidente en el código genético, en la figura 7-24, existen muchos casos en los que varios codones corresponden al mismo aminoácido.

A. ¿Por qué existen estas grandes diferencias entre las tasas sinónimas y no sinónimas de la sustitución de nucleótidos?

B. Considerando que las tasas de los cambios sinónimos son aproximadamente los mismos para los tres genes, ¿cómo es posible para el gen de la histona H3 resistir con tanta eficacia los cambios de nucleótidos que alteran la secuencia de aminoácidos?

C. En principio, una proteína podría estar altamente conservada debido a que su gen se encuentra en un sitio "privilegiado" en el genoma que está sujeto a tasas de mutación muy bajas. ¿Qué característica de los datos en el cuadro argumenta contra esta posibilidad para la proteína de la histona H3?

PREGUNTA 9-16

Las hemoglobinas de plantas fueron halladas por vez primera en legumbres, donde disminuyen la concentración de oxígeno en los nódulos de la raíz, permitiendo que las bacterias residentes puedan fijar nitrógeno. Estas hemoglobinas otorgan un característico color rosa a los nódulos de la

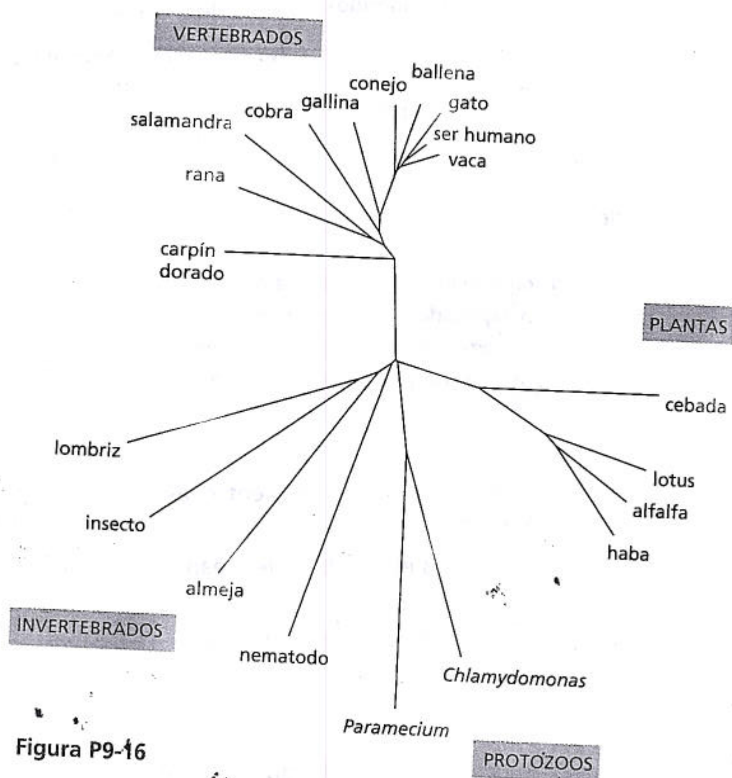


Figura P9-16

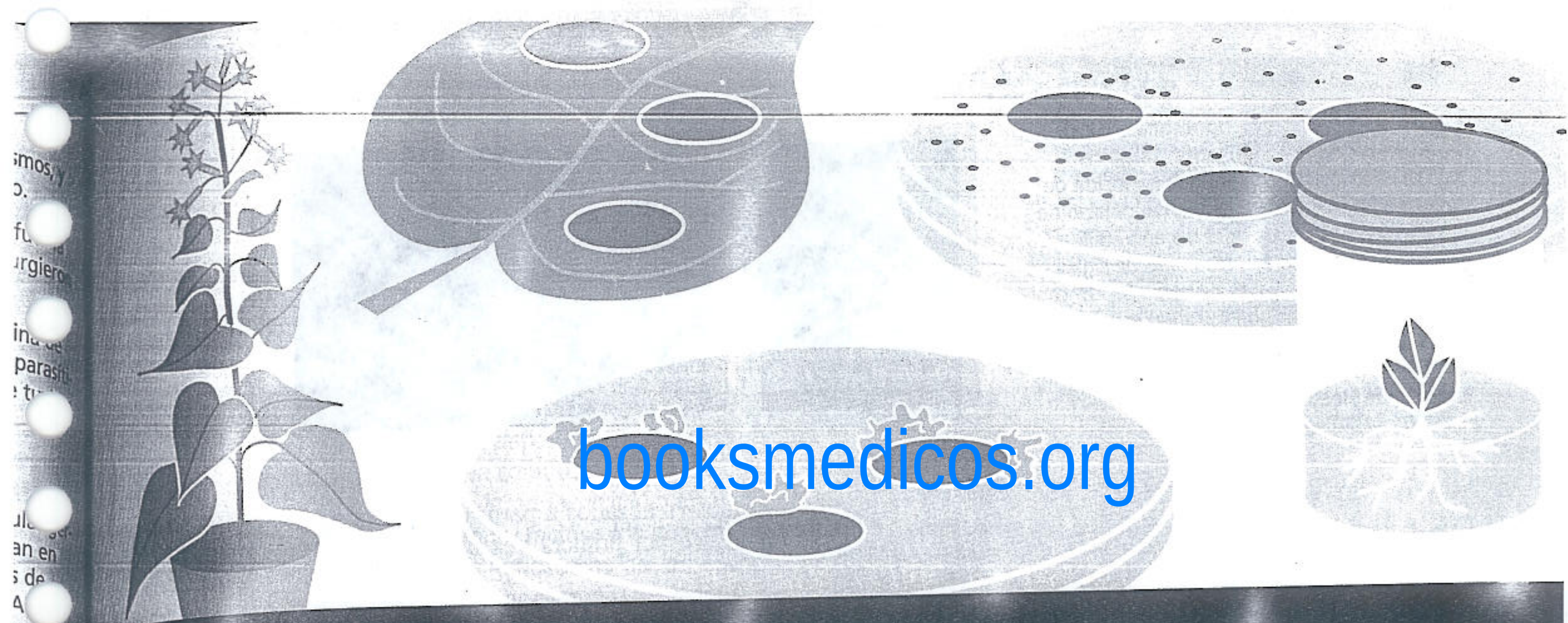
raíz. El descubrimiento de la hemoglobina en las plantas, al principio, fue sorprendente debido a que los científicos la consideraban como una característica distintiva de la sangre animal. Se postuló que el gen de la hemoglobina de planta se había adquirido por transferencia horizontal de algún animal. Ahora se han secuenciado muchos más genes de hemoglobina de una variedad de organismos, y en la figura P9-16 se muestra un árbol filogenético.

A. ¿La evidencia en el árbol filogenético avala o refuta la hipótesis de que las hemoglobinas de las plantas surgieron por transferencia génica horizontal?

B. En el supuesto de que los genes de la hemoglobina de las plantas derivaron originalmente de nematodos parasíticos, por ejemplo, ¿qué aspecto debería esperar que tuviera el árbol filogenético?

PREGUNTA 9-17

La precisión de la replicación del DNA en la línea celular germinal es tal que en cada división celular solo se alteran en promedio aproximadamente 0,6 de los 6 mil millones de nucleótidos. Debido a que la mayoría de nuestro DNA no está sujeto a cualquier restricción precisa sobre su secuencia, la mayor parte de estos cambios son selectivamente neutros. Dos seres humanos modernos elegidos al azar mostrarán aproximadamente una diferencia en la secuencia de nucleótidos cada 1.000 nucleótidos. Supongamos que todos somos descendientes de un único par de antepasados –Adán y Eva– que eran genéticamente idénticos y homocigotas (cada cromosoma era idéntico a su homólogo). Si se asume que todas las mutaciones de la línea germinal que surgen se preservan en los descendientes, ¿cuántas generaciones celulares deberían haber transcurrido desde los tiempos de Adán y Eva para que en los seres humanos modernos se hayan acumulado una diferencia por cada 1.000 nucleótidos? Asumiendo que cada generación de seres humanos corresponde en promedio a 200 ciclos de división celular en el linaje de células germinales; y permitiendo treinta años por generación humana, ¿cuántos años atrás debería haber vivido esta pareja de ancestros?



CAPÍTULO **DIEZ** 10

Análisis de genes y genomas

El siglo XXI promete ser una época apasionante para la biología celular. Los nuevos métodos para el análisis y la manipulación del DNA, el RNA y las proteínas dan lugar a una explosión de información que nos permite estudiar los genes y las células de formas antes no imaginadas. Ahora se cuenta con el acceso a las secuencias de muchos miles de millones de nucleótidos, que proporcionan las bases moleculares para docenas de organismos, desde microbios y plantas hasta insectos, seres humanos y otros mamíferos. Las nuevas técnicas avanzadas nos ayudan a descifrar esta información, nos permiten no sólo recopilar enormes catálogos de genes y proteínas, sino comenzar a desenmarañar cómo trabajan conjuntamente estos componentes en las células y organismos funcionales. El objetivo es comprender lo que sucede dentro de las células cuando responden a su ambiente y se relacionan con sus vecina.

Esta revolución tecnológica fue impulsada, en gran medida, por el desarrollo de métodos que han incrementado de forma espectacular nuestra capacidad para manipular el DNA. A comienzos de la década de 1970 se aisló por primera vez un determinado fragmento de DNA a partir de muchos millones de pares de nucleótidos en un cromosoma típico. Esto a su vez permitió generar moléculas nuevas de DNA en los tubos de ensayo y permitió la reintroducción de este material genético elaborado a la medida de los organismos vivientes. Estos desarrollos, denominados de diversos modos como **"tecnología de DNA recombinante"** o "ingeniería genética", posibilitaron la creación de cromosomas con combinaciones de genes que nunca podrían haberse formado naturalmente o combinaciones que podrían producirse en la naturaleza, pero que tomaría miles de años de sucesos azarosos para que se den en conjunto.

Por supuesto, los seres humanos han experimentado con DNA, aunque sin darse cuenta de esto, durante milenios. Las variedades modernas de rosas de jardín, por ejemplo, son el producto de siglos de cruzas selectivas entre linajes de rosas salvajes de China y Europa (Fig. 10-1A). Del mismo modo, las enormes variaciones en los tamaños, colores, formas e incluso comportamientos de las diferentes razas de perros son el resultado de deliberadas cruzas experimentales –con la selección



(A)



(B)

Figura 10-1. Los seres humanos experimentaron con DNA durante milenios. (A). La descripción más antigua conocida de una rosa en el arte occidental, del palacio de Cnossos en Creta, alrededor del año 2000 a.C. Las rosas modernas son resultado de siglos de cultivos entre estas rosas salvajes. (B). Un caniche y un Pug o Carlino ilustran el espectro de las crías de perros. Todos los perros, sin importar la cría, pertenecen a la misma especie. (B, cortesía de Heather Angel).

de los caracteres deseados– realizados a partir del lobo gris, el ancestro del perro moderno, que se domesticó por primera vez unos 10.000 a 15.000 años atrás (Fig. 10-1B).

Sin embargo, las técnicas modernas de ingeniería genética permitieron alterar el DNA con mucha mayor precisión y velocidad. En la actualidad, incluso un estudiante novato puede aislar a partir del genoma una región de DNA que contiene un gen específico, producir un número prácticamente ilimitado de copias exactas de este DNA y determinar su secuencia de nucleótidos con facilidad. Utilizando variaciones de estas técnicas, el gen aislado puede rediseñarse en el laboratorio y luego transferirse hacia las células en cultivo para esclarecer su función. Con técnicas más sofisticadas, los genes rediseñados pueden insertarse en animales y plantas, de modo que ellos pasan a ser una parte funcional y heredable del genoma del organismo.

Estos avances técnicos tuvieron un gran impacto en todos los aspectos de la biología celular; posibilitaron el conocimiento actual de la organización y la historia evolutiva de los genomas complejos de eucariontes (como se explicó en el capítulo 9) y condujeron al descubrimiento de nuevas clases de genes, RNA y proteínas. También, permitieron determinar las funciones de las proteínas y de dominios individuales dentro de las proteínas, al revelar numerosas relaciones inesperadas entre ellos. Estos avances proporcionaron a los biólogos importantes herramientas para revelar los mecanismos por los cuales se puede desarrollar un animal o una planta en su totalidad a partir de una sola célula.

La tecnología de DNA recombinante también tuvo una profunda influencia sobre muchos aspectos de la vida humana fuera de la investigación científica: se la emplea para detectar las mutaciones en el DNA que explican las enfermedades heredadas y para diagnosticar una predisposición individual a las enfermedades genéticas, como el cáncer. Se utiliza en la ciencia forense para identificar o absolver a posibles sospechosos de un crimen y para producir una gran cantidad de fármacos, entre ellos la insulina para diabéticos y la proteína de coagulación sanguínea factor VIII para hemofílicos. Incluso los detergentes para lavar la ropa que contienen proteasas termoestables que digieren restos de alimento o manchas de sangre, aprovechan los productos de la tecnología de DNA. De todos los descubrimientos descritos en este libro, los de la tecnología de DNA probablemente son los que tienen el mayor impacto sobre nuestra vida diaria.

En este capítulo se describen los métodos más utilizados para manipular genes y determinar su función. Se comenzará con una presentación de los principales métodos del revolucionario campo de la tecnología de DNA recombinante, en principio, con una descripción sobre las técnicas básicas de análisis del DNA. A continuación se describirá el modo en que pueden aislarse las secuencias de DNA y cómo producirlas en grandes números mediante las técnicas de *clonación de DNA* y de *reacción en cadena de la polimerasa (PCR)*, y la utilidad de estas secuencias para producir y estudiar las proteínas. En la última sección del capítulo se analizará el modo en que la tecnología de DNA se utiliza para descubrir las funciones de genes y las proteínas individuales en las células y en los organismos. En conjunto, estas técnicas hicieron posible la comprensión de la biología, que incluye gran parte del material presentado en este libro.

PREGUNTA 10-1

La secuenciación del DNA de sus dos genes propios de β-globina (uno de cada uno de sus dos cromosomas 11) revela una mutación en uno de los genes. Si sólo se brinda esta información, ¿le preocuparía a usted ser portador de una enfermedad hereditaria que podría transmitirse a sus hijos? ¿Qué otra información quisiera tener para evaluar su riesgo?

MANIPULACIÓN Y ANÁLISIS DE LAS MOLÉCULAS DE DNA

Hasta que se desarrollaron las técnicas de DNA recombinante las claves fundamentales para comprender cómo funcionan las células permanecieron ocultas en el genoma. Una vez que los científicos se dieron cuenta de que la información genética era codificada en la secuencia de nucleótidos del DNA, necesitaron examinar los genes individuales con el objetivo de descubrir a qué se parecen y cómo funcionan. Antes de la revolución en la tecnología del DNA, que tuvo lugar en la década de 1970, esta tarea era casi imposible. Parte del problema se debía a que aislar un único gen no era una tarea común. A diferencia de una proteína, un gen no existe como una unidad separada en las células; en realidad, es parte de una molécula de DNA mucho más grande. Incluso los genomas bacterianos, que son mucho menos complejos que los cromosomas de los eucariontes, son enormemente largos. El genoma de *E. coli*, por ejemplo, contiene 4,6 millones de nucleótidos.

Grandes fragmentos de DNA pueden partirse en pequeños fragmentos por rotura mecánica; sin embargo, el fragmento que contiene un gen particular será todavía uno entre cien mil o más de los fragmentos de DNA que se obtendrán, por ejemplo, mediante este método a partir de un genoma de mamífero. Y en una muestra que contiene muchas copias idénticas de la misma molécula de DNA de gran tamaño, cada molécula se fragmentará de modo diferente por ruptura mecánica, para producir un grupo heterogéneo de fragmentos azarosos. Entonces, ¿cómo puede aislarse y purificarse un gen?

La solución de este problema surgió del descubrimiento de una clase de enzimas bacterianas conocidas como *nucleasas de restricción*. Una nucleasa cataliza la hidrólisis de un enlace fosfodiéster en un ácido nucleico. Pero estas enzimas tienen una propiedad que es diferente de las otras nucleasas: escinden el DNA bicatenario sólo en sitios particulares, determinados por una secuencia corta de pares de nucleótidos. Por esta razón las nucleasas de restricción se pueden emplear para producir un grupo reproducible de fragmentos específicos de DNA a partir de cualquier genoma. Se comienza esta sección describiendo cómo funcionan estas enzimas y cómo pueden separarse entre sí los fragmentos de DNA producidos por ellas. Luego se explicará la manera de determinar cuáles de estos fragmentos contiene el DNA de interés.

Las nucleasas de restricción cortan moléculas de DNA en sitios específicos

Como la mayor parte de las herramientas de la tecnología de DNA, las nucleasas de restricción fueron descubiertas por los investigadores que estudiaban un problema biológico determinado que captaba su interés. Se había observado que ciertas bacterias degradaban siempre el DNA "extraño" que se les introducía en forma experimental. Una investigación sobre la causa de esta degradación reveló una clase nueva de nucleasas presentes dentro de la bacteria hospedadora. La característica más importante de estas nucleasas es que escindían sólo el DNA en ciertas secuencias nucleotídicas. El DNA propio de la bacteria está protegido de la escisión por modificación química de estas mismas secuencias. Debido a que estas enzimas restringen la transferencia de DNA entre ciertas cepas de bacterias se las denominó **nucleasas de restricción**. Esta solución a un problema al parecer muy difícil de conocer en la biología bacteriana en esos días cambió el modo en que los biólogos moleculares estudian la vida.

Diferentes especies de bacterias contienen distintas nucleasas de restricción, cada una de las cuales corta en una secuencia específica y diferente de nucleótidos (Fig. 10-2). Dado que estas secuencias diana son cortas –en general, de 4-8 pares de nucleótidos– los sitios donde éstas pueden escindir podrían estar de casualidad, en cualquier molécula de DNA de gran longitud. Por lo tanto, las nucleasas de res-

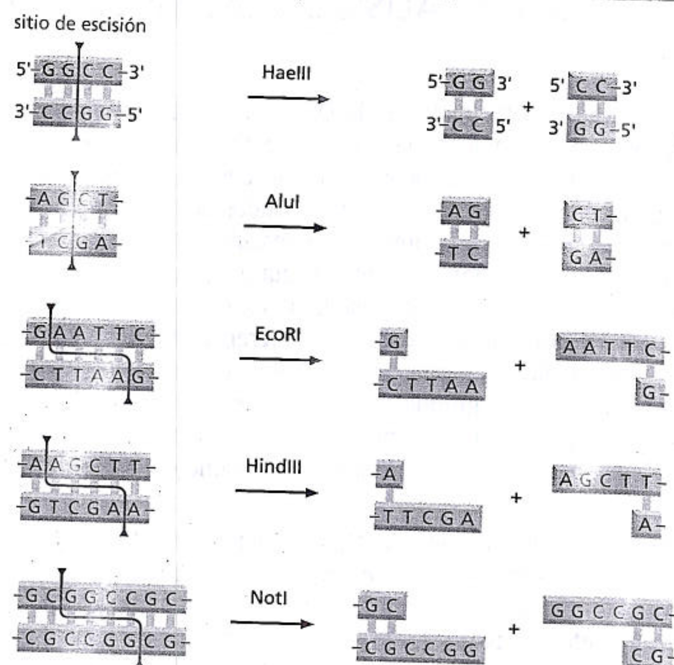


Figura 10-2. Las nucleasas de restricción cortan el DNA en secuencias específicas de nucleótidos. Las secuencias diana con frecuencia son palindrómicas (es decir, la secuencia de nucleótidos es simétrica alrededor de un punto central). En estos ejemplos ambas cadenas de DNA son cortadas en puntos específicos dentro de la secuencia diana. Algunas enzimas, como HaeIII y AluI, cortan de forma recta a través de la doble hélice de DNA y dejan dos moléculas de DNA con los extremos romos; para otras, como EcoRI, HindIII y NotI, los cortes sobre cada cadena son escalonados. Estos cortes escalonados generan cortos "extremos cohesivos" de cadena simple que sobresalen y que ayudan a que las moléculas de DNA cortadas se vuelvan a unir mediante el apareamiento de bases complementarias. Esta posibilidad de volver a unir moléculas de DNA es importante para la clonación del DNA, como se explicará más adelante en este capítulo. Las nucleasas de restricción se obtienen, por lo general, de las bacterias, y sus nombres reflejan sus orígenes: por ejemplo, la enzima EcoRI proviene de *Escherichia coli*.

tricción se pueden emplear para analizar DNA a partir de cualquier fuente. La principal causa de que son tan útiles es que una determinada enzima siempre cortará una determinada molécula de DNA en los mismos sitios. Por consiguiente, en el caso de una muestra de DNA humano el tratamiento con una nucleasa de restricción siempre producirá el mismo grupo de fragmentos de DNA. Las nucleasas de restricción son ahora vendidas por muchas compañías que con frecuencia reciben los pedidos por correo; en un catálogo en línea se incluyen cientos de estas enzimas, cada una capaz de cortar una secuencia diferente de DNA.

Las secuencias diana de las nucleasas de restricción varían en la frecuencia con la que se producirán en el DNA. Como se muestra en la figura 10-2, la enzima HaeIII corta en una secuencia de cuatro pares de nucleótidos; sería de esperar que, puramente por azar, esta secuencia aparezca una vez cada 256 pares de nucleótidos (1 en 4^4). Mediante un razonamiento similar sería de esperar que la enzima NotI, que tiene una secuencia diana de ocho nucleótidos, escinda el DNA en promedio una vez cada 65.536 pares de nucleótidos (1 en 4^8). De este modo, los tamaños promedio de los fragmentos de DNA producidos por las distintas nucleasas de restricción pueden ser muy diferentes. Esta característica hace posible escindir una molécula larga de DNA en fragmentos de un tamaño más apropiado para una determinada aplicación.

La electroforesis en gel separa fragmentos de DNA de diferentes tamaños

Con frecuencia tras la escisión de una molécula de DNA de gran tamaño en fragmentos más pequeños realizada con una nucleasa de restricción se desea separar a los fragmentos de DNA entre sí. Esto, en general, se realiza utilizando la electroforesis en gel, que separa los fragmentos según su longitud. La mezcla de fragmentos se siembra en uno de los extremos de un bloque de gel de agarosa o de poliacrilamida, que contiene una red de poros microscópica. A continuación, se aplica un voltaje a través del bloque del gel. Debido a que el DNA tiene carga negativa, los fragmentos migran hacia el electrodo positivo; los fragmentos de mayor tamaño migran con mayor lentitud porque la matriz de agarosa impide su avance. Durante varias horas los fragmentos de DNA se dispersan a través del gel según su tamaño, formando una escalera de bandas específicas, cada una compuesta de un grupo de moléculas de DNA de idéntica longitud (Fig. 10-3A). El ais-

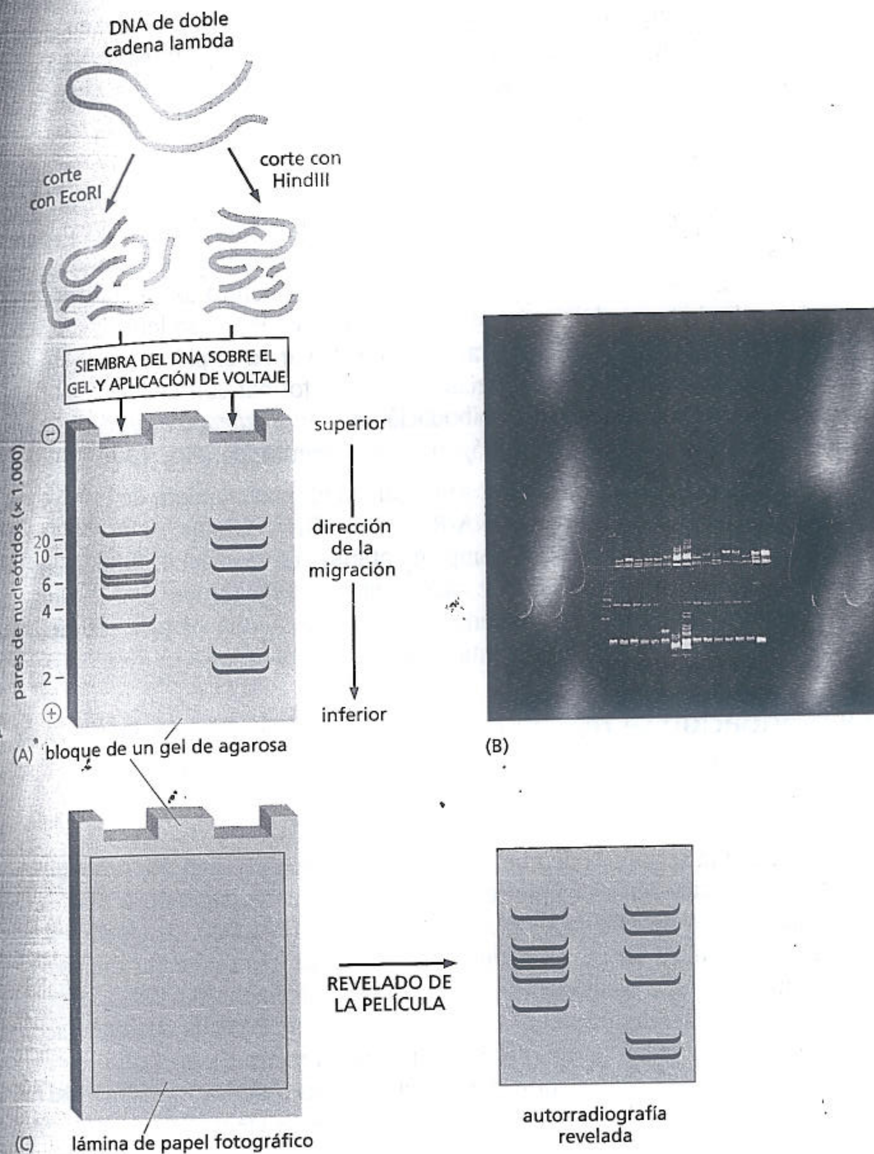


Figura 10-3. Las moléculas de DNA pueden separarse por tamaño utilizando electroforesis en gel. (A). La ilustración esquemática compara los resultados de cortar la misma molécula de DNA (en este caso el genoma de un virus que infecta bacterias denominado lambda) con dos nucleasas de restricción diferentes: EcoRI (*izquierda*) y HindIII (*derecha*). A continuación los fragmentos se separan mediante electroforesis en gel. Dado que los fragmentos más grandes migran con más lentitud que los más pequeños, las bandas más inferiores del gel contienen los fragmentos de DNA más pequeños. (B) Para visualizar las bandas de DNA, el gel se embebe en un colorante, como el bromuro de etidio, que se une al DNA y emite fluorescencia brillante cuando se observa con luz ultravioleta. (C). Un método alternativo para la visualización de las bandas de DNA es la autorradiografía. Previamente a la escisión con las enzimas de restricción, el DNA puede "marcarse" con el radioisótopo ^{32}P mediante la sustitución de ^{32}P por algunos de los átomos de fósforo no radiactivos. Esto podría efectuarse, por ejemplo, mediante la replicación del virus lambda ante la presencia de ^{32}P. Debido a que las partículas β emitidas a partir del ^{32}P se expondrán a una película fotográfica, cuando se revele una película colocada en forma plana sobre la parte superior del gel de agarosa se observará la posición de todas las bandas de DNA. (B, cortesía de Science Photo Library).

lamiento físico de un DNA particular es bastante simple: se puede cortar una pequeña sección del gel que contiene la banda con un bisturí o una hoja de afeitar y a continuación extraer el DNA.

Las bandas de DNA sobre los geles de agarosa o de poliacrilamida son invisibles a menos que se marque o se tiña el DNA de algún modo. Un método sensible de tinción del DNA es exponerlo a un marcador que emite fluorescencia bajo luz ultravioleta cuando está unido al DNA (Fig. 10-3B). Un método de detección aun más sensible implica la incorporación de un radioisótopo en las moléculas de DNA antes de la electroforesis; con frecuencia se utiliza ^{32}P porque puede incorporarse en los fosfatos del DNA y emite partículas energéticas que se detectan con facilidad por la técnica de autorradiografía (Fig. 10-3C).

La hibridación proporciona un método sensible para detectar secuencias nucleotídicas específicas

Al exponer un gel a un colorante fluorescente que se une al DNA –o que marca el DNA con ^{32}P– se pueden visualizar todas las bandas sobre el gel. Pero esto no revela qué banda contiene el segmento de DNA buscado. Es posible identificar un

PREGUNTA 10-2

¿Qué productos se generan cuando el fragmento de doble cadena de DNA de la *izquierda* se digiere con (A) EcoRI, (B) AluI, (C) NotI o (D) las tres enzimas juntas? (Véase Fig. 10-2 para las secuencias diana de estas enzimas).

5´-AAGAATTGCGGAATTCGAGCTTAAGGGCCGCGCCGAAGCTTTAAA-3´
3´-TTCTTAACGCCTTAAGCTCGAATTCCCGGCGCGGCTTCGAAATTT-5´

fragmento que tenga la secuencia de nucleótidos de interés si se tiene en cuenta la propiedad fundamental del DNA por la que toda cadena simple de DNA forma pares de bases de Watson-Crick con una segunda cadena de una secuencia de nucleótidos complementaria.

En condiciones normales, las dos cadenas de la doble hélice de DNA se mantienen juntas por enlaces de hidrógeno, que pueden romperse por el calentamiento del DNA a una temperatura cercana a los 90°C o por exposición a pH extremos. Estos tratamientos liberan las uniones entre las dos cadenas, pero no rompen los enlaces covalentes que unen los nucleótidos entre sí dentro de cada cadena. Si el proceso se invierte con lentitud (esto es, mediante el descenso lento de la temperatura hasta la temperatura corporal normal o llevando el pH de nuevo al valor neutro), las cadenas complementarias volverán a formar con facilidad las hélices dobles. Este proceso se denomina **hibridación** o *renaturalización*, y resulta de una restauración de los enlaces de hidrógeno complementarios (**Fig. 10-4**).

Una reacción de hibridación similar se producirá entre cualquiera de las dos cadenas simples de ácidos nucleicos (DNA/RNA, RNA/RNA o RNA/DNA), siempre que tengan secuencias nucleotídicas complementarias. La capacidad fundamental de una molécula de ácido nucleico de cadena simple para formar una doble hélice sólo con una molécula complementaria proporciona una técnica valiosa para detectar secuencias específicas de nucleótidos en el DNA y en el RNA.

La hibridación se realiza con el uso de sondas de DNA diseñadas para reconocer una secuencia deseada de nucleótidos

Para buscar una secuencia de nucleótidos por hibridación, primero se requiere un fragmento de ácido nucleico para realizar la búsqueda. Esta *sonda de DNA* es una molécula de DNA de cadena simple, típicamente de 10-1.000 nucleótidos de longitud, que se utiliza en las reacciones de hibridación para detectar moléculas de ácidos nucleicos que contienen una secuencia complementaria. En la actualidad es posible sintetizar de forma no enzimática sondas de DNA de cualquier secuencia deseada. Se pueden programar máquinas del tamaño de un horno de microondas para unir nucleótidos entre sí mediante síntesis química y producir así cadenas simples de DNA de cualquier secuencia de varios cientos de nucleótidos de longitud.

De hecho, para saber qué secuencia sintetizar es necesario conocer la secuencia de nucleótidos del fragmento de DNA de interés. Un ejemplo sería identificar un fragmento de DNA que contiene una porción del gen de la β-globina. Como la secuencia de este gen se conoce, es un ejercicio sencillo producir una sonda que permita reconocer la secuencia en una base de datos y, a continuación, programar el sintetizador del ácido nucleico. En la actualidad estas sondas pueden adquirirse en compañías que sintetizan fragmentos de DNA por encargo. Simplemente se debe enviar a la compañía un correo electrónico que contenga la secuencia deseada y las moléculas de DNA se entregan al día siguiente.

Una vez que se cuenta con la sonda, ésta puede utilizarse para investigar ácidos nucleicos con una secuencia complementaria, que incluye el fragmento de interés

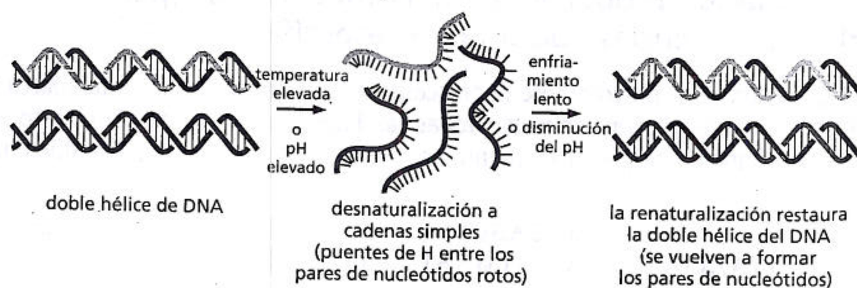


Figura 10-4. Una molécula de DNA puede desnaturalizarse y renaturalizarse (hibridación). Para que se produzca la hibridación, las dos cadenas simples deben tener secuencias nucleotídicas complementarias que permitan el apareamiento de bases. En este ejemplo las cadenas *roja* y *naranja* son complementarias entre sí y las cadenas *azul* y *verde* también lo son.

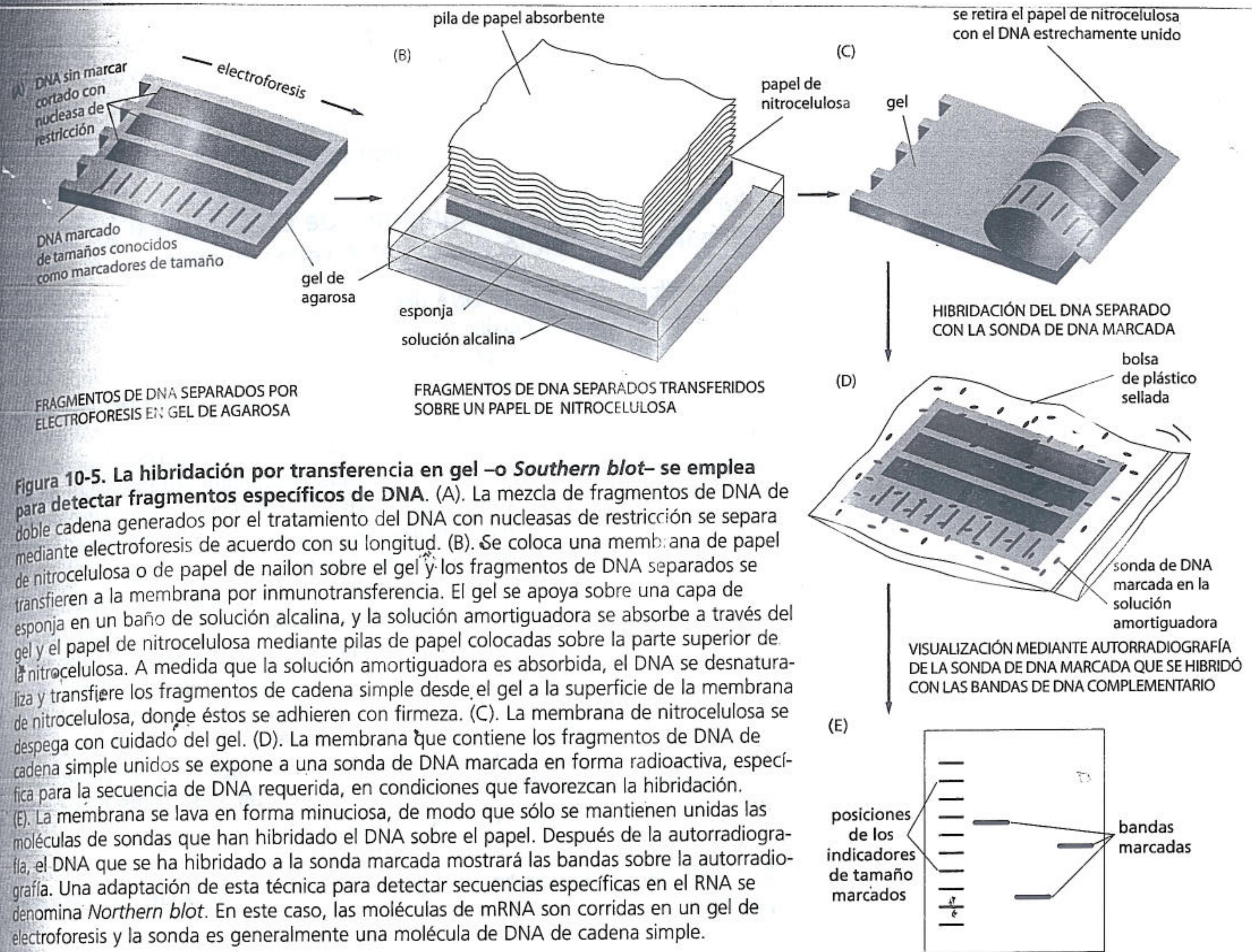


Figura 10-5. La hibridación por transferencia en gel –o *Southern blot*– se emplea para detectar fragmentos específicos de DNA. (A). La mezcla de fragmentos de DNA de doble cadena generados por el tratamiento del DNA con nucleasas de restricción se separa mediante electroforesis de acuerdo con su longitud. (B). Se coloca una membrana de papel de nitrocelulosa o de papel de nailon sobre el gel y los fragmentos de DNA separados se transfieren a la membrana por inmunotransferencia. El gel se apoya sobre una capa de esponja en un baño de solución alcalina, y la solución amortiguadora se absorbe a través del gel y el papel de nitrocelulosa mediante pilas de papel colocadas sobre la parte superior de la nitrocelulosa. A medida que la solución amortiguadora es absorbida, el DNA se desnaturaliza y transfiere los fragmentos de cadena simple desde el gel a la superficie de la membrana de nitrocelulosa, donde éstos se adhieren con firmeza. (C). La membrana de nitrocelulosa se despega con cuidado del gel. (D). La membrana que contiene los fragmentos de DNA de cadena simple unidos se expone a una sonda de DNA marcada en forma radioactiva, específica para la secuencia de DNA requerida, en condiciones que favorezcan la hibridación. (E). La membrana se lava en forma minuciosa, de modo que sólo se mantienen unidas las moléculas de sondas que han hibridado el DNA sobre el papel. Después de la autorradiografía, el DNA que se ha hibridado a la sonda marcada mostrará las bandas sobre la autorradiografía. Una adaptación de esta técnica para detectar secuencias específicas en el RNA se denomina *Northern blot*. En este caso, las moléculas de mRNA son corridas en un gel de electroforesis y la sonda es generalmente una molécula de DNA de cadena simple.

entre un conjunto de fragmentos de DNA que fueron separados por tamaño en un gel de agarosa. La hibridación resultante con bandas en el gel de agarosa puede visualizarse por un procedimiento de laboratorio habitual de transferencia *Southern blot*, denominado así en honor al científico que lo desarrolló (Fig. 10-5).

Las sondas de DNA son muy utilizadas en biología celular. Más adelante en este capítulo se verá cómo puede usarse la hibridación con sondas específicas para determinar en qué tejido y en qué estadio del desarrollo se transcribe un gen. Pero, en primer lugar se analizará el modo en que la hibridación facilita el proceso de clonación del DNA.

CLONACIÓN DE DNA

Se ha visto que las moléculas de DNA pueden cortarse en fragmentos más cortos utilizando nucleasas de restricción y que estos fragmentos pueden separarse entre sí mediante electroforesis en gel. Asimismo, se explicó que la hibridación puede emplearse para identificar un apareamiento con una sonda de DNA de secuencia conocida. En esta sección del capítulo se verá cómo se combinan estos procedimientos con el objetivo de obtener y poder trabajar con una parte física del DNA proveniente de un genoma. En otras palabras, se analizará cómo puede *clonarse* un segmento determinado de cualquier genoma. El término **clonación de DNA** literalmente se refiere al acto de producir muchas copias idénticas de una molécula de DNA. Esta amplificación hace posible separar físicamente un tramo determinado (con frecuencia un gen en particular) del resto del DNA de la célula, que está

presente en cantidades diminutas comparado con la masa final de la secuencia amplificada. La producción de muchas copias de un segmento definido de DNA a partir de un genoma es una de las hazañas más importantes de la tecnología de DNA recombinante dado que éste es el punto de partida para comprender la función de cada fragmento de DNA dentro del genoma.

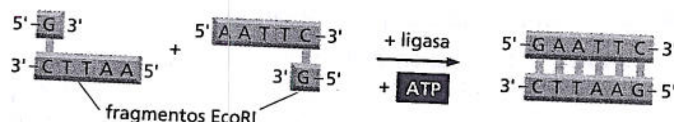
La DNA ligasa une fragmentos de DNA entre sí para producir una molécula de DNA recombinante

La tecnología moderna del DNA depende de la capacidad para romper moléculas largas de DNA que se puedan clasificar sin inconvenientes y de la capacidad para unir estos fragmentos agrupándolos en nuevas combinaciones. Toda molécula de DNA construida de esta forma en el laboratorio se denomina **DNA recombinante**. Las mismas células proporcionaron los medios para realizar estas manipulaciones moleculares. Como se comentó en el capítulo 6, la enzima **DNA ligasa** vuelve a sellar las mellas en el esqueleto de DNA que se originan durante la replicación y la reparación del DNA (véanse Figs. 6-16 y 6-26). Esta enzima se convirtió en una de las herramientas más importantes de la tecnología de DNA recombinante porque les permite a los científicos unir dos fragmentos de DNA cualquiera (Fig. 10-6). Debido a que el DNA tiene la misma estructura química en todos los organismos, esta simple maniobra permite que se unan DNA de cualquier fuente. De este modo, fragmentos de DNA aislados pueden recombinarse en el tubo de ensayo para producir moléculas de DNA que no se hallan en la naturaleza. Una vez que la ligasa unió dos moléculas de DNA, la célula no puede determinar que los dos DNA estaban separados originalmente y tratará al DNA resultante como una sola molécula. Si este fragmento de DNA extraño se introduce en forma apropiada en el DNA de una célula hospedadora, se replicará y se transcribirá como si fuera una parte normal del DNA de la propia célula.

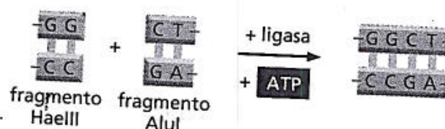
El DNA recombinante puede copiarse dentro de las células bacterianas

La obtención de muchas copias idénticas de un fragmento definido de DNA, en general un gen, puede lograrse de varias maneras. Una forma es introducir el DNA

(A) UNIÓN DE DOS EXTREMOS ESCALONADOS COMPLEMENTARIOS



(B) UNIÓN DE DOS EXTREMOS ROMOS



(C) UNIÓN DE UN EXTREMO ROMO CON UN EXTREMO ESCALONADO

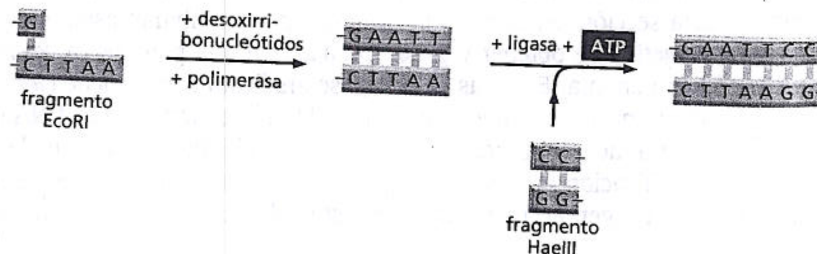


Figura 10-6. Las moléculas de DNA recombinante pueden formarse in vitro. La enzima DNA ligasa puede unir dos fragmentos de DNA cualesquiera. El ATP proporciona la energía necesaria para que la ligasa vuelva a sellar el esqueleto azúcar-fosfato del DNA. (A). Unión de los dos fragmentos de DNA producidos por la nucleasa de restricción EcoRI. Obsérvese que los extremos escalonados producidos por esta enzima permiten a los extremos de los dos fragmentos el apareamiento correcto de las bases entre sí y facilitan enormemente que se vuelvan a unir. Esta reacción de ligación también reconstruye el sitio de corte de la nucleasa de restricción original. (B). Unión de un fragmento de DNA producido por la nucleasa de restricción HaeIII a uno producido por AluI. (C). Unión de los fragmentos de DNA producidos por EcoRI y HaeIII, respectivamente, utilizando la DNA polimerasa para rellenar el corte escalonado producido por EcoRI. Cada fragmento de DNA mostrado en la figura se orienta de modo que sus extremos 5' son el extremo izquierdo de la cadena superior y el extremo derecho de la cadena inferior, como se indica en (A).

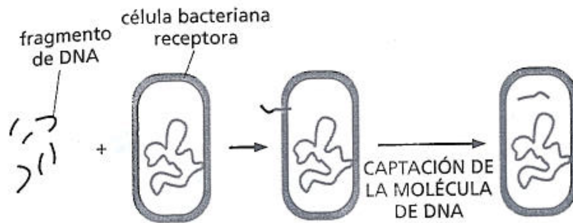


Figura 10-7. Algunas bacterias pueden incorporar de manera eficaz DNA extraño de sus alrededores, un proceso conocido como transformación. En el laboratorio, el DNA para la transformación puede provenir de cualquier fuente, incluso de los seres humanos. Una vez dentro de la célula receptora el DNA donante puede llegar a ser parte del genoma receptor (mediante el proceso de recombinación homóloga; véase capítulo 6) o –en casos especiales– mantenerse como una parte de DNA independiente del cromosoma bacteriano (como se describirá después).

a ser copiado en una bacteria que se divide rápidamente; cada vez que la bacteria replica su propio DNA también copia el DNA introducido.

El DNA puede introducirse en una bacteria por un mecanismo denominado **transformación**. Algunas bacterias incorporan naturalmente a las moléculas de DNA presentes en sus alrededores al arrastrar el DNA a través de su membrana celular hacia el interior de la célula. El DNA que ingresa con mayor frecuencia se incorpora en el genoma mediante recombinación homóloga. El término "transformación" se originó a partir de las observaciones iniciales de este fenómeno en el que parecía que una cepa bacteriana había llegado a transformarse en otra. La transformación deliberada de una cepa de bacteria con DNA purificado derivado de otra cepa proporcionó una de las primeras pruebas de que el DNA es, en efecto, el material genético (véase Biología experimental, pp. 174-176).

En una población bacteriana natural, las bacterias muertas que liberaron sus contenidos proporcionan una fuente de DNA para la transformación (incluido el DNA) en el ambiente. En el laboratorio, las bacterias como *E. coli* pueden ser estimuladas para incorporar DNA recombinante creado en el laboratorio (Fig. 10-7). Un gran avance para el investigador es que el DNA desnudo de cualquier fuente –no sólo el DNA de la misma especie bacteriana– puede incorporarse de esta forma. Por lo tanto, la transformación bacteriana facilita el estudio del DNA de organismos complejos, como los seres humanos, en el laboratorio.

Se emplean vectores plasmídicos especializados para clonar DNA

Como ya se mencionó, el DNA introducido en la bacteria con frecuencia se incorpora en el genoma de ésta. Sin embargo, los investigadores interesados en la clonación hallaron que era mucho más fácil manipular, copiar y purificar su DNA recombinante cuando se mantenía como una molécula independiente, separada del cromosoma bacteriano. Para mantener el DNA extraño en una célula bacteriana se utiliza como transportador o *vector* un **plásmido** bacteriano. Los plásmidos utilizados típicamente para la clonación génica son moléculas de DNA circulares relativamente pequeñas de varios miles de pares de nucleótidos que pueden replicarse dentro de la bacteria (Fig. 10-8). Un vector plasmídico contiene un origen de replicación que le permite replicarse en una célula bacteriana de forma independiente del cromosoma bacteriano. Éste además tiene un sitio de corte para una nucleasa de restricción específica, de modo que se pueda abrir el plásmido e insertar el fragmento de DNA extraño. Los plásmidos, además, suelen contener un gen que codifica algunas propiedades seleccionables, como la resistencia a los antibióticos, lo que permite identificar las bacterias que ingresan al DNA recombinante.

Los plásmidos que existen naturalmente en muchas especies diferentes de bacterias fueron descubiertos por los médicos y los científicos debido a que con frecuencia son portadores de genes que le dan a sus bacterias hospedadoras resistencia a uno o más antibióticos. En efecto, antibióticos históricamente potentes (p. ej., la penicilina) ya no son más eficaces contra muchas de las infecciones bacterianas actuales debido a que los plásmidos se diseminan entre las especies bacterianas mediante transferencia horizontal (Fig. 9-17). Los plásmidos que se emplean para la investigación de DNA recombinante son versiones derivadas a partir de estos plásmidos naturales.



Figura 10-8. Los plásmidos bacterianos se emplean como vectores de clonación. Esta molécula de DNA circular de doble cadena consiste en varios miles de pares de nucleótidos. La tinción requerida para volver visible el DNA en esta microfotografía electrónica hace aparecer el DNA mucho más grueso de lo que es en realidad. (Cortesía de Brian Wells).

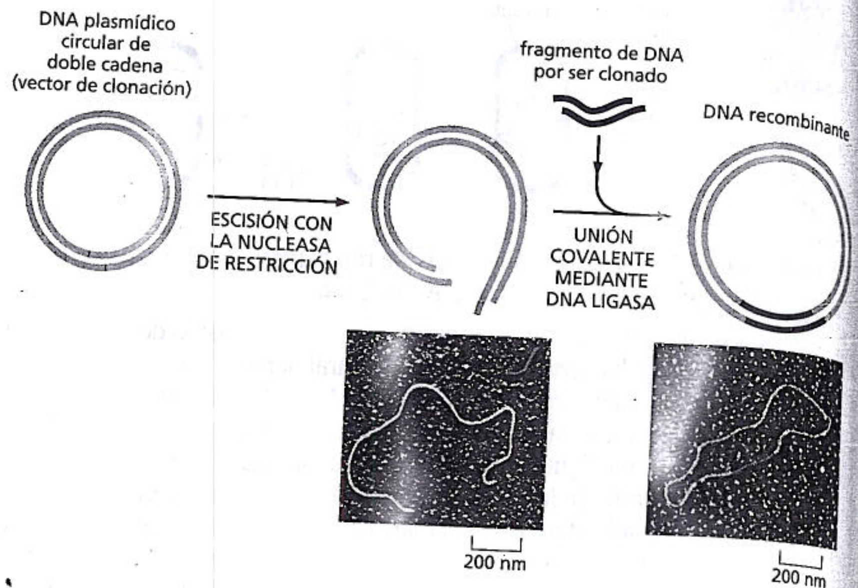


Figura 10-9. Se inserta un fragmento de DNA en un plásmido bacteriano utilizando la enzima DNA ligasa. El plásmido es abierto con una nucleasa de restricción (en este caso una que produce extremos escalonados) y se mezcla con el fragmento de DNA por ser clonado (que se ha preparado utilizando la misma nucleasa de restricción), DNA ligasa y ATP. La DNA ligasa sella los extremos escalonados apareados entre sí y las roturas en el esqueleto de DNA para producir una molécula completa de DNA recombinante. (Microfotografías cortesía de Huntington Potter y David Dressler).

Para insertar un fragmento de DNA en un plásmido se expone el DNA plasmídico purificado a nucleasas de restricción que lo escinden sólo en un lugar y el fragmento de DNA a ser clonado se inserta en éste mediante una DNA ligasa (Fig. 10-9). Después, esta molécula de DNA recombinante se introduce en una bacteria (en general, *E. coli*) mediante transformación, y se le permite a la bacteria crecer en un caldo nutritivo, donde duplica su cantidad cada 30 minutos. Cada vez que ésta se duplica, el número de copias de la molécula de DNA recombinante también lo hace, y después de sólo un día se producirán cientos de millones de copias del plásmido. A continuación, las bacterias se lisan y el DNA plasmídico se purifica (en virtud de su pequeño tamaño) del resto de los contenidos celulares, que incluyen los grandes cromosomas bacterianos. La preparación purificada de DNA plasmídico contendrá millones de copias del fragmento de DNA original (Fig. 10-10). Este fragmento de DNA puede recuperarse al extraerlo limpiamente fuera del DNA plasmídico utilizando la enzima de restricción apropiada y separarlo del DNA plasmídico mediante electroforesis en gel (véase Fig. 10-3). Estas etapas permiten la purificación efectiva de un determinado tramo de DNA del genoma de cualquier organismo.

Los genes pueden aislarse a partir de una genoteca de DNA

Se ha visto cómo puede producirse cualquier fragmento de DNA en grandes cantidades al insertarlos en una bacteria. Pero, ¿cómo se identifican y eligen estos fragmentos de DNA en primer lugar? En particular, ¿cómo se aísla primero un gen humano individual para clonación? Como ejemplo se describirá la clonación del gen que codifica la proteína de coagulación sanguínea humana factor VIII. Aunque, en la actualidad, los métodos de aislamiento difieren de este caso, el ejemplo ilustra muchas de las características generales de la clonación de DNA.

Los defectos en el gen que codifica el factor VIII son causa del tipo de hemofilia más común: la hemofilia A. Esta enfermedad determinada genéticamente se reco-

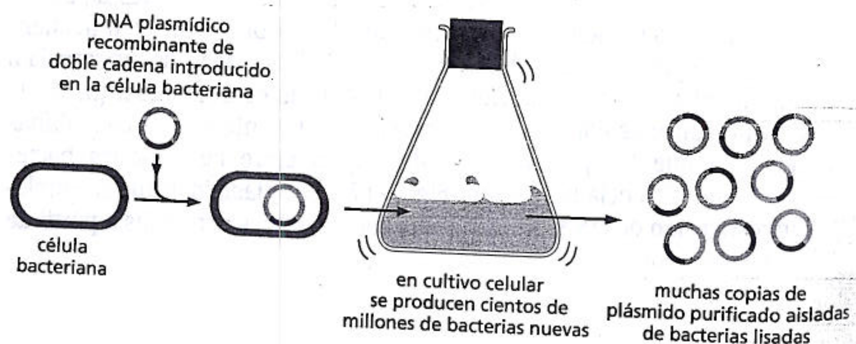


Figura 10-10. Un fragmento de DNA clonado puede replicarse dentro de una célula bacteriana. Para producir muchas copias de un fragmento de DNA particular, en primer lugar éste se inserta en un vector plasmídico, como se muestra en la figura 10-9. El plásmido de DNA recombinante que resulta se introduce a continuación en una bacteria en la que puede replicarse varios millones de veces a medida que la bacteria se multiplica. Por razones de simplicidad no se muestra el genoma de la célula bacteriana.

nació durante más de mil años y afecta a uno de cada 10.000 varones aproximadamente. Las personas con hemofilia A presentan un déficit en la producción del factor VIII completamente activo y de este modo tienen episodios repetidos de sangrado desenfrenado. Hasta hace poco el tratamiento habitual para esta enfermedad era la inyección de la proteína factor VIII concentrada reunida de muchas muestras de sangre. Lamentablemente, antes de que se realizara la detección sistemática del virus HIV (el virus que causa el SIDA) este tratamiento expuso a los hemofílicos al riesgo de infección por HIV. La elaboración comercial del factor VIII puro utilizando la tecnología de DNA recombinante ofrece una mejora significativa en el tratamiento de esta enfermedad. La proeza requirió la clonación del gen humano normal que codifica el factor VIII y la unión de sus secuencias codificantes. Esta secuencia de DNA se empleó entonces para producir grandes cantidades de proteína purificada, como se describe más adelante.

Tratar con 3×10^9 pares de nucleótidos del genoma humano completo es una tarea de enormes proporciones, y el primer paso en la clonación de cualquier gen humano consiste en romper el DNA genómico total en fragmentos más pequeños, más manejables para trabajar con mayor facilidad. En la **figura 10-11** se resume un procedimiento general. Primero se extrae el DNA humano a partir de una muestra de tejido o cultivo celular y se lo escinde con una nucleasa de restricción, que produce millones de fragmentos diferentes de DNA. A continuación se realiza la ligación en vectores plasmídicos de la mezcla de los fragmentos de DNA en condiciones que favorecen la inserción de un fragmento de DNA para cada molécula de plásmido. Estos plásmidos recombinantes se mezclan con un cultivo de *E. coli* a una concentración que asegure que no se incorpora más de una molécula de plásmido por cada bacteria. La colección de fragmentos de DNA clonados en el cultivo bacteriano resultante se conoce como **genoteca de DNA**. En este caso, se denomina *genoteca de DNA genómico* a los fragmentos de DNA que derivan directamente del DNA cromosómico. Si las colonias derivadas de una única bacteria se aíslan en placas de Petri, cada colonia bacteriana representará un clon de un fragmento particular de DNA humano. De este modo, una colección de varios millones de colonias en esta genoteca debería representar todo el genoma humano.

Para encontrar un gen en particular nos enfrentamos a un problema análogo al de ingresar en una biblioteca con el deseo de hallar un libro, y darnos cuenta de que no existe un catálogo o un listado automatizado de los millones de libros de la biblioteca. ¿Cómo hacemos para encontrar un fragmento determinado de DNA (en nuestro caso el gen del factor VIII) en la enorme genoteca de DNA humano? La clave es aprovechar las propiedades de la hibridación de los ácidos nucleicos que se explicaron al principio de este capítulo. Si tenemos una sonda de DNA para el gen del factor VIII, se la puede utilizar para encontrar el clon correspondiente en la genoteca. Pero, ¿de dónde viene esta sonda antes de identificar y clonar el gen en sí?

En el caso del factor VIII se purificó una pequeña cantidad de proteína de donantes de sangre humana, utilizando la coagulación de la sangre como ensayo bioquímico. Se determinó la secuencia parcial de aminoácidos de la proteína (en la actualidad esto se realizaría mediante espectrometría de masas; véase Fig. 4-45). Mediante la aplicación del código genético en el sentido inverso se utilizó la información de esta secuencia de aminoácidos para deducir la secuencia parcial de nucleótidos de este gen. Esta secuencia de nucleótidos se sintetizó en forma química para crear una sonda de DNA. Por medio de esta sonda los clones bacterianos poco frecuentes en la genoteca de DNA que contenían el fragmento de factor VIII complementario se identificaron mediante hibridación (**Fig. 10-12**).

Cuando esta sonda del factor VIII se utilizó por primera vez sobre una genoteca de DNA genómico humano, se identificó un único clon complementario de la genoteca de DNA. La secuencia de nucleótidos de este DNA clonado mostró que contenía sólo una pequeña porción del gen del factor VIII, y hubo que agrupar todo el gen. Sabemos ahora que el gen del factor VIII tiene una longitud de 180.000 pares de nucleótidos y contiene muchos intrones (Fig. 7-18B), de modo que no es sorprendente que no se hallara a un único clon que contuviera el gen entero.

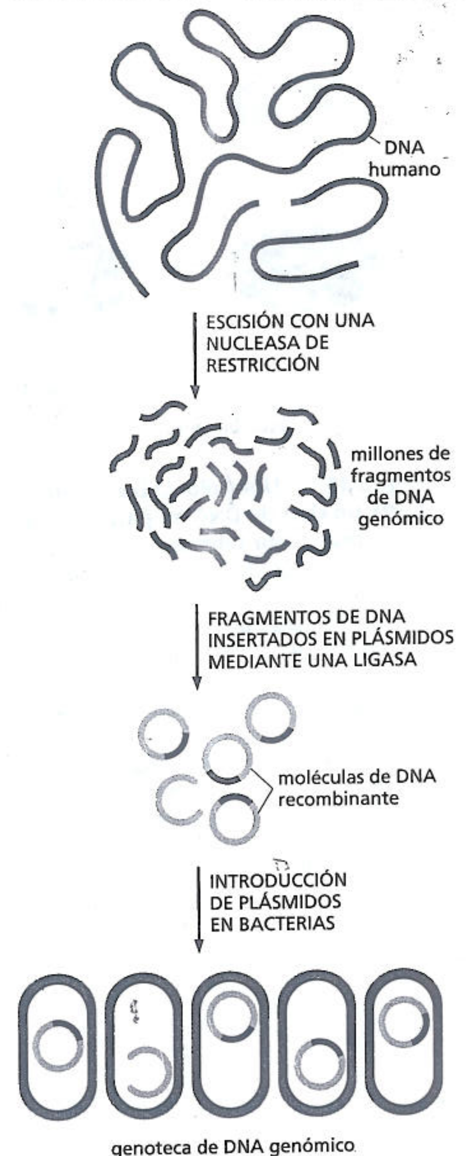


Figura 10-11. Las genotecas de fragmentos de DNA genómicos humanos pueden construirse utilizando nucleasas de restricción y ligasas. Una genoteca genómica comprende un grupo de bacterias, cada una portadora de un pequeño fragmento diferente de DNA humano. Por simplicidad, se muestra la clonación de tan solo unos pocos fragmentos de DNA representativos coloreados; en realidad, todos los fragmentos grises de DNA también se clonarán.

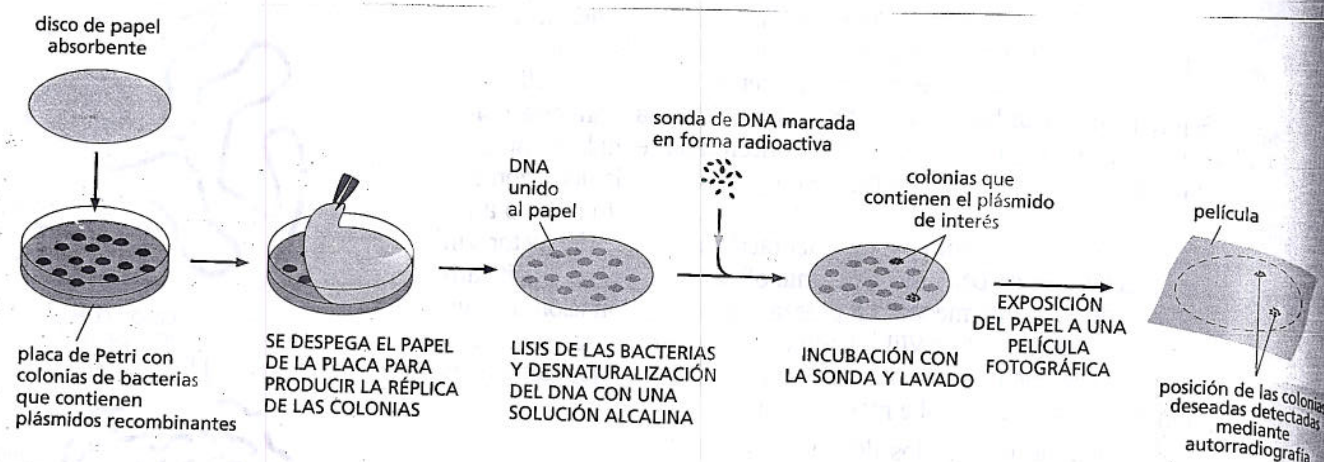


Figura 10-12. Una colonia bacteriana que porta un clon de DNA en particular puede identificarse por hibridación. Una réplica de la disposición de las colonias sobre la placa de Petri se confecciona mediante la presión de una pieza de papel absorbente contra la superficie de la placa. Esta réplica se trata con una solución alcalina (para lisar las células y separar el DNA del plásmido en cadenas simples) y luego el papel se hibrida con una sonda de DNA altamente radiactiva. Las colonias de bacterias que unieron la sonda se identifican por autorradiografía. Las células vivas que contienen el plásmido luego pueden aislarse a partir de la placa original.

Muchos genes humanos se identificaron y clonaron por vez primera utilizando variaciones del procedimiento descrito para el factor VIII. Sin embargo, ahora que se conoce la secuencia completa del genoma humano, la clonación de un gen particular suele ser mucho más fácil. Por ejemplo, una vez que se conoce la secuencia parcial de aminoácidos de una proteína determinada, se puede utilizar mediante la ayuda de ordenadores directamente en la búsqueda de la secuencia genómica humana para el gen correspondiente. Una vez encontrado el gen en la base de datos electrónica, se puede diseñar sondas para extraer el gen de la genoteca de DNA. Como se describirá enseguida, es posible clonar directamente el gen a partir de una muestra de DNA humano, lo que evita el uso de una genoteca entera.

Las genotecas de cDNA representan el mRNA producido por un tejido en particular

Para muchas aplicaciones de la tecnología de manipulación del DNA es ventajoso obtener un gen que contenga solo las secuencias codificantes, esto es, una forma que carezca del DNA intrónico. Por ejemplo, en el caso del gen del factor VIII el clon genómico completo –intrones y exones– es tan grande y difícil de manejar que es necesario trabajar con el gen en fragmentos. Además, si se quiere deducir la secuencia completa de aminoácidos de la proteína del factor VIII sólo a partir de la secuencia de nucleótidos de este gen, sería difícil descifrar dónde comienza y termina cada exón; después de todo, la mayor parte de la secuencia del gen está formada por secuencias de intrones relativamente inútiles (véase Fig. 7-18B). Sin embargo, como se verá en la siguiente sección, es relativamente simple aislar un gen libre de todos sus intrones. Para este objetivo se utiliza un tipo de genoteca diferente, denominada *genoteca de cDNA*.

Una genoteca de cDNA humano es semejante a la genoteca de DNA genómico en que ambas contienen numerosos clones que, a su vez, contienen muchas secuencias de DNA humano diferentes. Pero se diferencia en un aspecto importante: el DNA que entra en una genoteca de cDNA no es DNA genómico (DNA cromosómico), sino que es DNA copiado a partir de mRNA presente en un tejido o cultivo celular en particular. Para preparar una genoteca de **cDNA**, se extrae el mRNA total de las células, y las copias de DNA de las moléculas de mRNA son producidas por la enzima transcriptasa inversa (**Fig. 10-13**). A continuación se clonan las moléculas de DNA complementario o cDNA, como se realiza con los fragmentos de DNA genómico descritos antes, para producir la genoteca de cDNA. Por ejemplo, con esta genoteca de cDNA preparada a partir del hígado, el órgano que normalmente produce factor VIII, fue posible aislar la secuencia codificante completa del gen del factor VIII, desprovista de intrones, y presente en un solo fragmento de DNA. El cDNA del factor VIII se aisló de una genoteca de cDNA al utilizar una parte del DNA genómico del factor VIII como una sonda y empleando el procedimiento mostrado en la figura 10-12. Al final de este capítulo se verá cómo se utilizó la secuencia codificante para producir en escala comercial la proteína del factor VIII humano purificada.

Hay varias diferencias importantes entre los clones de DNA genómico y los clones de cDNA, como se ilustra en la **figura 10-14**. Los clones genómicos representan una muestra al azar de todas las secuencias de DNA halladas en el genoma de un organismo y, con muy raras excepciones, contendrán las mismas secuencias sin importar el tipo celular del que se obtuvo el DNA. Además, los clones genómicos de los eucariontes contienen grandes cantidades de secuencias de DNA repetitivo, intrones, DNA regulador y DNA espaciador; las secuencias que codifican proteínas constituyen sólo un pequeño porcentaje de la genoteca (véase Fig. 9-29). Todo lo contrario, los clones de cDNA contienen principalmente secuencias codificantes, y sólo las de genes que fueron transcriptos a mRNA en el tejido del que se obtuvo el RNA. Como las células de diferentes tejidos producen distintos grupos de moléculas de mRNA se obtendrá una genoteca de cDNA diferente para cada tipo de tejido. Los patrones de expresión génica cambian durante el desarrollo, de modo que las genotecas también serán el reflejo de los genes que se expresan en diferentes estadios en su desarrollo.

Sin lugar a dudas la ventaja más importante de los clones de cDNA es que contienen las secuencias codificantes del gen sin interrupciones. De este modo, si el objetivo de la clonación del gen es deducir la secuencia de aminoácidos de la proteína a partir del DNA o producir la proteína en grandes cantidades mediante la expresión del gen clonado en una célula bacteriana o de levadura (ninguna de las cuales puede eliminar intrones de los transcriptos de RNA de mamíferos), es esencial comenzar con cDNA.

La principal ventaja de los clones genómicos, por otra parte, es que contienen intrones y exones, e incluyen las secuencias reguladoras que determinan cuándo y dónde se expresan los genes. Por esta razón, los clones genómicos se utilizan para determinar las secuencias nucleotídicas completas, como se verá más adelante en este capítulo.

PREGUNTA 10-3

Analice la siguiente afirmación: "A partir de la secuencia nucleotídica de un clon de cDNA puede deducirse la secuencia completa de aminoácidos de una proteína mediante la aplicación del código genético. Por lo tanto, la bioquímica de la proteína se ha tornado superflua debido a que no se puede obtener más información por el estudio de la proteína".

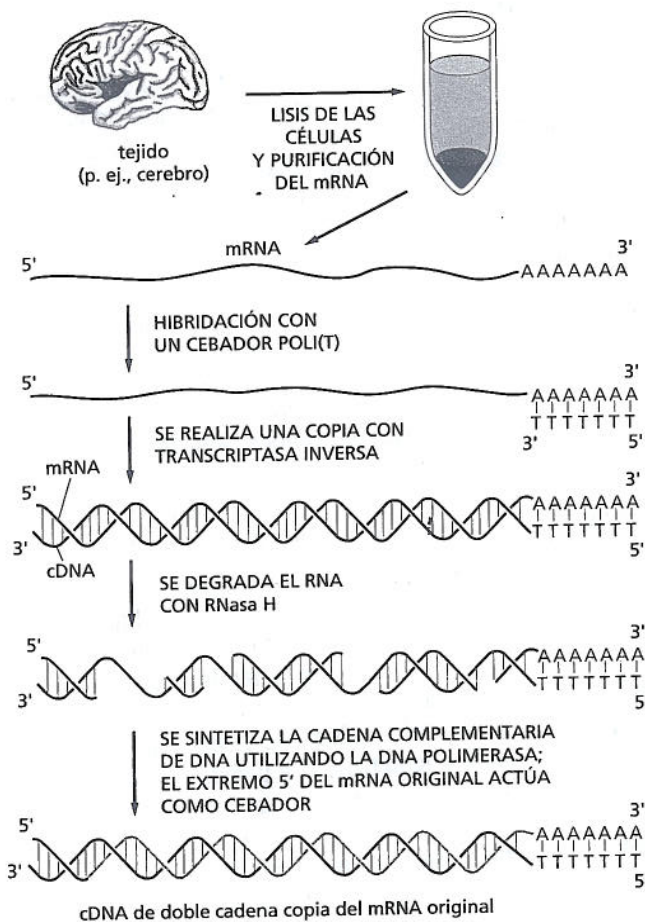


Figura 10-13. El DNA complementario (cDNA) se prepara a partir del mRNA. El mRNA total se extrae de un tejido en particular y las copias de DNA (cDNA) de las moléculas de mRNA son producidas por la enzima transcriptasa inversa (véase Fig. 6-38). Para simplificación, aquí se ilustra la copia de sólo uno de estos mRNA en cDNA.

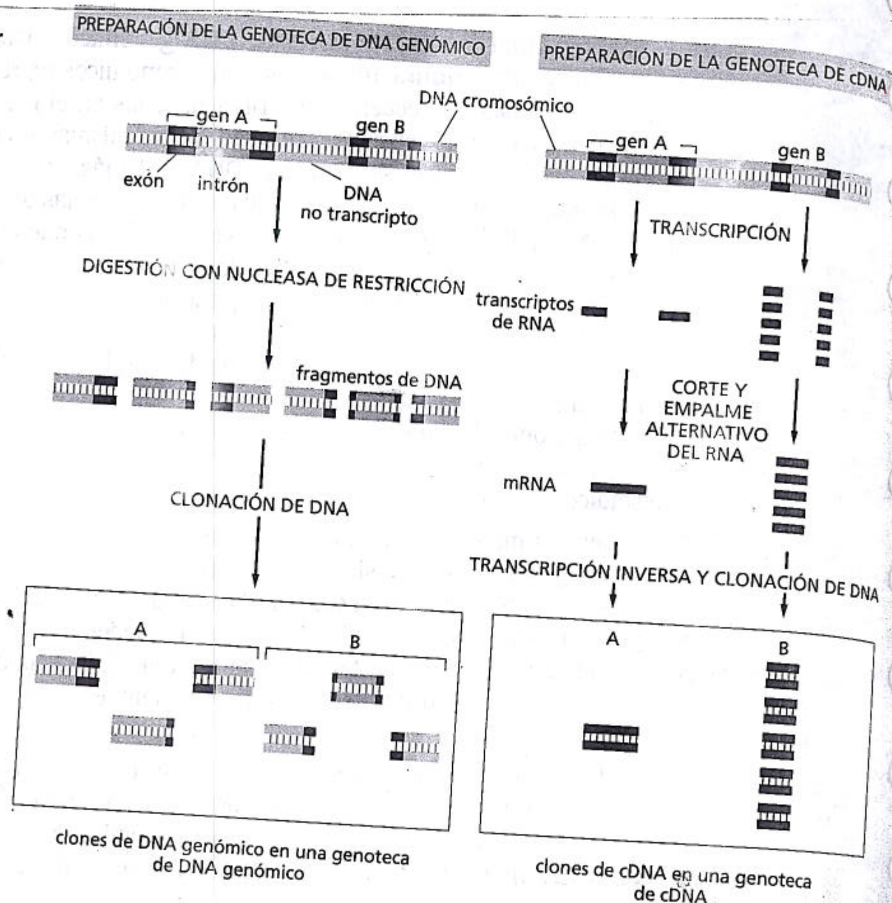


Figura 10-14. Los clones de DNA genómico y los clones de cDNA derivados a partir de la misma región de DNA son diferentes. En este ejemplo el gen A es transcripto infrecuentemente, mientras que el gen B es transcripto a menudo y ambos genes contienen intrones (*anaranjado*). En la genoteca de DNA genómico ambos intrones y el DNA no transcripto (*gris*) están incluidos en los clones y la mayor parte de los clones contendrán sólo parte de la secuencia codificante de un gen (*rojo*). En los clones de cDNA las secuencias de intrones se han eliminado mediante corte y empalme alternativo del RNA durante la formación del mRNA (*azul*) y, por esta razón, en cada clon está presente una secuencia codificante continua. Debido a que el gen B se transcribe con mayor frecuencia que A en las células a partir de las cuales fue construida la genoteca de cDNA, estará representado con mucha más frecuencia que A en la genoteca de cDNA. Por el contrario, A y B deben estar representados en las mismas proporciones en la genoteca de DNA genómico.

La reacción en cadena de la polimerasa amplifica determinadas secuencias de DNA

La clonación a través de las genotecas de DNA fue al comienzo el único camino para aislar un gen y aún se utiliza en la secuenciación de genomas completos y cuando deben manipularse genes muy grandes. Sin embargo, un método conocido como **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** proporciona alternativas más rápidas y menos costosas para muchas aplicaciones de la clonación, en particular para los organismos en los que se conoce la secuencia completa del genoma. En la actualidad, casi todas las clonaciones se realizan con PCR.

La PCR se inventó en la década de 1980 y puede producirse enteramente in vitro sin el uso de células. Con esta técnica se puede seleccionar una secuencia específica de nucleótidos para replicarse en forma selectiva y rápida en grandes cantidades a partir de cualquier muestra de DNA que la contenga. Por ejemplo, la PCR es ahora muy utilizada para proporcionar grandes cantidades de cualquier gen a partir de una pequeña muestra de DNA humano. Esta técnica tiene otras aplicaciones, incluida la amplificación de DNA para uso en los estudios de diagnóstico para enfermedades genéticas y en la medicina forense, como se comentará.

La PCR se basa en el uso de la DNA polimerasa para copiar un molde de DNA en ciclos repetidos de replicación. La polimerasa es guiada hasta la secuencia a ser copiada por cortos oligonucleótidos cebadores que se agregan a la reacción y se hibridan al molde de DNA al comienzo y al final de la secuencia de DNA deseada. Los cebadores proporcionan los extremos 3' para que la DNA polimerasa comience la replicación sobre cada cadena de DNA. Estos cebadores deben ser diseñados por el investigador y sintetizados a pedido, de modo que la PCR pueda utilizarse sólo para clonar un DNA del que se conocen sus secuencias de comienzo y terminación. Durante cada ciclo de replicación se separan las dos cadenas del molde de DNA bicatenario y se copian de modo independiente. En la **figura 10-15** se muestran los pasos separados en el primer ciclo de replicación. Después

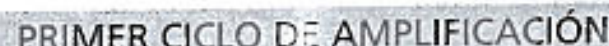


Figura 10-15. Los cebadores de la PCR dirigen la amplificación del segmento de DNA deseado. El conocimiento de la secuencia de DNA a ser amplificada se usa para diseñar dos moléculas sintéticas y cortas de DNA, cada una complementaria a la secuencia de una cadena de la doble hélice de DNA en los extremos opuestos de la región que se ha de amplificar. Estas moléculas de DNA actúan como cebadores para la síntesis de DNA in vitro, que es llevada a cabo por una DNA polimerasa, y éstos determinan el segmento de DNA que se amplifica. Cada ciclo de PCR consta de tres pasos. En primer lugar, el DNA de doble cadena es sometido a un tratamiento breve con calor para separar las dos cadenas (paso 1). Tras la separación de la cadena, el enfriamiento del DNA ante la presencia de un gran exceso de los dos cebadores de DNA permite que éstos se hibriden con las secuencias complementarias en las dos cadenas de DNA (paso 2). Luego, esta mezcla se incuba con DNA polimerasa y los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfatos de modo que se sintetiza el DNA, que comienza desde los dos cebadores (paso 3). A continuación se reinicia el ciclo mediante un tratamiento por calor para separar las cadenas de DNA recién sintetizadas. La técnica depende del uso de una DNA polimerasa especial aislada de una bacteria termófila; esta polimerasa es estable a temperaturas más elevadas que las DNA polimerasas eucariontes, de modo que no se ve desnaturalizada por el tratamiento con calor mostrado en el paso 1 y, por consiguiente, no deber ser agregada de nuevo en cada ciclo de la PCR.

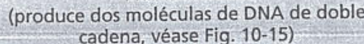


Figura 10-16. La PCR utiliza ciclos repetidos de separación de las cadenas, hibridación y síntesis para amplificar el DNA. Cuando el procedimiento se repite una y otra vez, los fragmentos recién sintetizados sirven a su vez como moldes. Cada ciclo duplica la cantidad de DNA sintetizada en el ciclo anterior y en unos pocos ciclos el DNA predominante es idéntico a la secuencia delimitada por los dos cebadores, a los que incluye, en el molde original. En el ejemplo ilustrado aquí, tres ciclos de reacción producen 16 cadenas de DNA, 8 de las cuales (*recuadradas en amarillo*) son de la misma longitud y se corresponden exactamente con una u otra cadena de la secuencia original mostrada sobre el extremo izquierdo; las otras cadenas contienen DNA extra en dirección 3' de la secuencia original, que se replica en los primeros pocos ciclos. Después de tres ciclos más, 240 de las 256 cadenas de DNA corresponderán exactamente a la secuencia original y luego de varios ciclos más casi todas las cadenas de DNA tendrán esta única longitud. Si bien el DNA presente al comienzo de la PCR aún permanece, es tan ampliamente superado que su cantidad pasa a ser insignificante. En la práctica se requieren 20-30 ciclos para una amplificación útil de DNA. Cada ciclo insume sólo alrededor de 5 minutos, y la automatización del procedimiento completo permite ahora la clonación libre de células de un fragmento de DNA en escasas horas, en comparación con los varios días requeridos por las metodologías convencionales de clonación. El procedimiento completo se muestra en la Película 10.1.

de varios ciclos de replicación se formarán muchas copias de la secuencia, lo característico es miles de millones (Fig. 10-16). La PCR es extremadamente sensible, puede detectar una sola copia de una secuencia de DNA en una muestra al amplificarla tanto que se torna detectable, por ejemplo, por su tinción luego de la separación mediante electroforesis en gel (véase Fig. 10-3).

Existen varias aplicaciones de la PCR especialmente útiles. En primer lugar, es el método de elección para clonar fragmentos de DNA relativamente cortos (por debajo de 10.000 pares de nucleótidos) a partir de una célula. El molde original para la reacción puede ser DNA o RNA, de modo que la PCR puede emplearse para obtener una copia genómica completa (con intrones y exones) o una copia de cDNA del gen (Fig. 10-17). Lo atrayente de este método es que los genes pueden ser clonados directamente a partir de un fragmento de DNA o RNA sin la necesidad de insumir tiempo y esfuerzo para construir primero una genoteca de DNA.

En segundo lugar, otra aplicación de la PCR, que se basa en su extraordinaria sensibilidad, es su uso para detectar infecciones por patógenos en estadios muy tempranos. En este caso, se utilizan secuencias cortas complementarias para el genoma del patógeno como cebadores y tras muchos ciclos de amplificación se puede determinar la presencia o la ausencia de incluso pocas copias de un genoma invasor en la muestra de sangre (Fig. 10-18). Para muchas infecciones, la PCR es el método más sensible de detección; actualmente está reemplazando el uso de anticuerpos contra proteínas de superficie para detectar la presencia de patógenos en muestras humanas.

Y por último, la PCR tiene un gran potencial en la medicina forense. Su extrema da sensibilidad hace posible que funcione con muestras muy pequeñas –mínimas

PREGUNTA 10-4

A. Si la PCR mostrada en la figura 10-16 se produce durante dos ciclos adicionales de amplificación, ¿cuántos fragmentos de DNA marcados en gris, verde, rojo o recuadrados en amarillo se producirán? Si se llevan a cabo muchos ciclos adicionales, ¿cuáles son los fragmentos que predominarán?

B. Suponga que usted comienza con una molécula de DNA de doble cadena y amplifica una secuencia de 500 pares de nucleótidos contenida dentro de ésta. ¿Cuántos ciclos de amplificación por PCR necesitará aproximadamente para producir 100 ng de este DNA? Ésta es una cantidad que puede detectarse con facilidad tras la tinción con un marcador fluorescente. (Ayuda: para este cálculo debe saber que cada nucleótido tiene un peso molecular promedio de 330 g/mol).

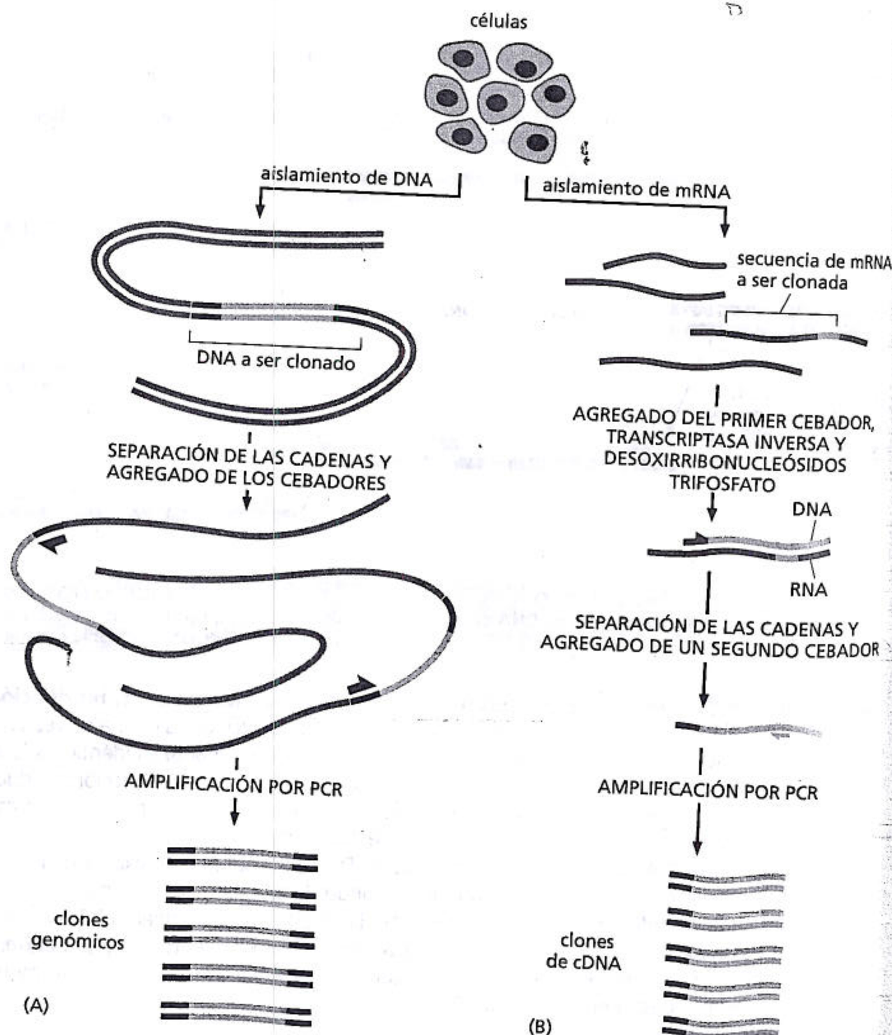


Figura 10-17. La PCR puede utilizarse para obtener clones genómicos o de cDNA. (A). Para obtener un clon genómico por PCR el DNA cromosómico primero se purifica a partir de las células. Se agregan los cebadores de PCR que están a ambos lados del fragmento de DNA por clonar y se completan muchos ciclos de la reacción de PCR (véase Fig. 10-16). Debido a que sólo se amplifica el DNA entre los cebadores (a los que incluye) la PCR proporciona un modo de obtener selectivamente un corto fragmento de DNA cromosómico en una forma pura. (B). Para utilizar la PCR con el fin de obtener un clon de cDNA de un gen se debe, primero, purificar el mRNA proveniente de las células. A continuación, se agrega el primer cebador a la población de mRNA y la transcriptasa inversa se emplea para producir una cadena de DNA complementario. Después, se agrega el segundo cebador y la molécula de DNA de cadena simple se amplifica mediante muchos ciclos de PCR.

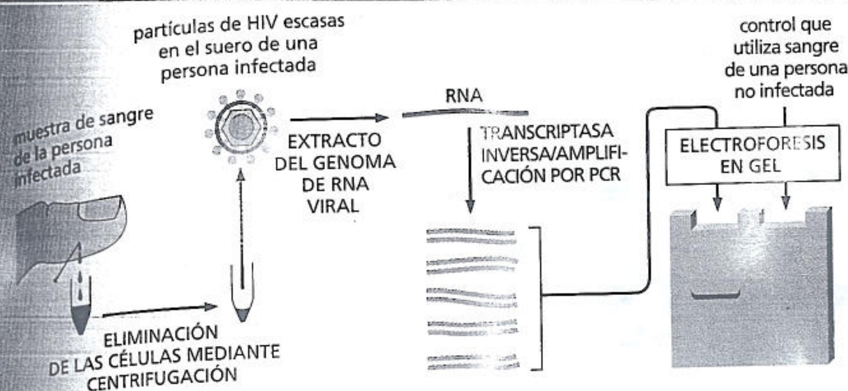


Figura 10-18. La PCR se puede emplear para detectar la presencia de un genoma viral en una muestra de sangre. Debido a su enorme capacidad de amplificar la señal de cada molécula única de ácido nucleico, la PCR es un método extraordinariamente sensible para detectar cantidades mínimas de virus en una muestra de sangre o tejido sin necesidad de purificar el virus. En el caso del HIV, el virus que produce el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, el genoma es una molécula de RNA de cadena simple. Además del HIV, muchos virus que causan infecciones en los seres humanos se estudian ahora de este modo.

trazas de sangre y tejido que pueden contener los restos de tan sólo una célula– y obtener una *huella genética de DNA* (*DNA fingerprint*) de la persona de quien proviene. El genoma de cada ser humano (con excepción de los gemelos idénticos) tiene una secuencia de DNA diferente; por esta razón, es bastante probable que el DNA amplificado por PCR con un par de cebadores en particular difiera en la secuencia de un individuo a otro. Al utilizar un grupo de cebadores seleccionados en forma cuidadosa que abarquen las partes variables más conocidas del genoma humano, la PCR puede generar una huella genética de DNA para cada individuo (Fig. 10-19).

DESCIFRAMIENTO Y UTILIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

Desde el comienzo de este capítulo se asumió que se comprendía la función del gen que se deseaba estudiar, al menos, a grandes rasgos. Pero suponga que usted ha descubierto un gen que codifica una proteína de función desconocida. ¿Cómo determinaría qué hace la proteína? Ahora que los proyectos de secuenciación de genomas identifican con rapidez genes nuevos a partir de la secuencia de DNA sola, esto se ha convertido en una pregunta frecuente en biología celular. Por ejemplo, de los 25.000 genes humanos que fueron identificados (véase Biología experimental, pp. 318-319) en más de 10.000 aún se desconocen sus funciones.

Los procedimientos descritos permitieron, desde hace tiempo, que los biólogos obtuvieran grandes cantidades de DNA en una forma que resulta sencillo el trabajo en el laboratorio. El DNA puede estar presente como fragmentos almacenados en la genoteca de DNA o como una colección de productos de PCR sedimentados en el fondo de un tubo de ensayo; en cualquiera de los casos, este DNA proporciona el material crudo para realizar los experimentos más fascinantes, los que buscan resolver cómo funcionan los genes individuales –y las moléculas de RNA y las proteínas que ellos codifican– dentro de los organismos vivos.

Actualmente, el trabajo de los biólogos puede ser especialmente creativo porque hay tantas maneras de abordar el problema de la función de los genes como científicos que desean resolverlo. Las técnicas que utilizan los investigadores para estudiar la actividad de un gen, en general, dependen de su formación y experiencia: los genetistas podrían elegir diseñar organismos mutantes en los que se ha alterado la actividad del gen; los bioquímicos podrían usar el gen con el fin de producir grandes cantidades de proteínas para determinar sus actividades enzimáticas y la estructura tridimensional; y los que están más orientados a los sistemas informáticos podrían comenzar por investigar las bases de datos de genes con secuencias o patrones de expresión similares. Si bien estos enfoques difieren en términos de la experiencia y el equipamiento necesarios para implementarlos, todos están diseñados para dar pistas sobre el papel del gen en el interior de una célula o de un organismo.

En esta sección se presentan algunos de los métodos utilizados para determinar la función de un gen. Como todos los enfoques comienzan con su secuencia

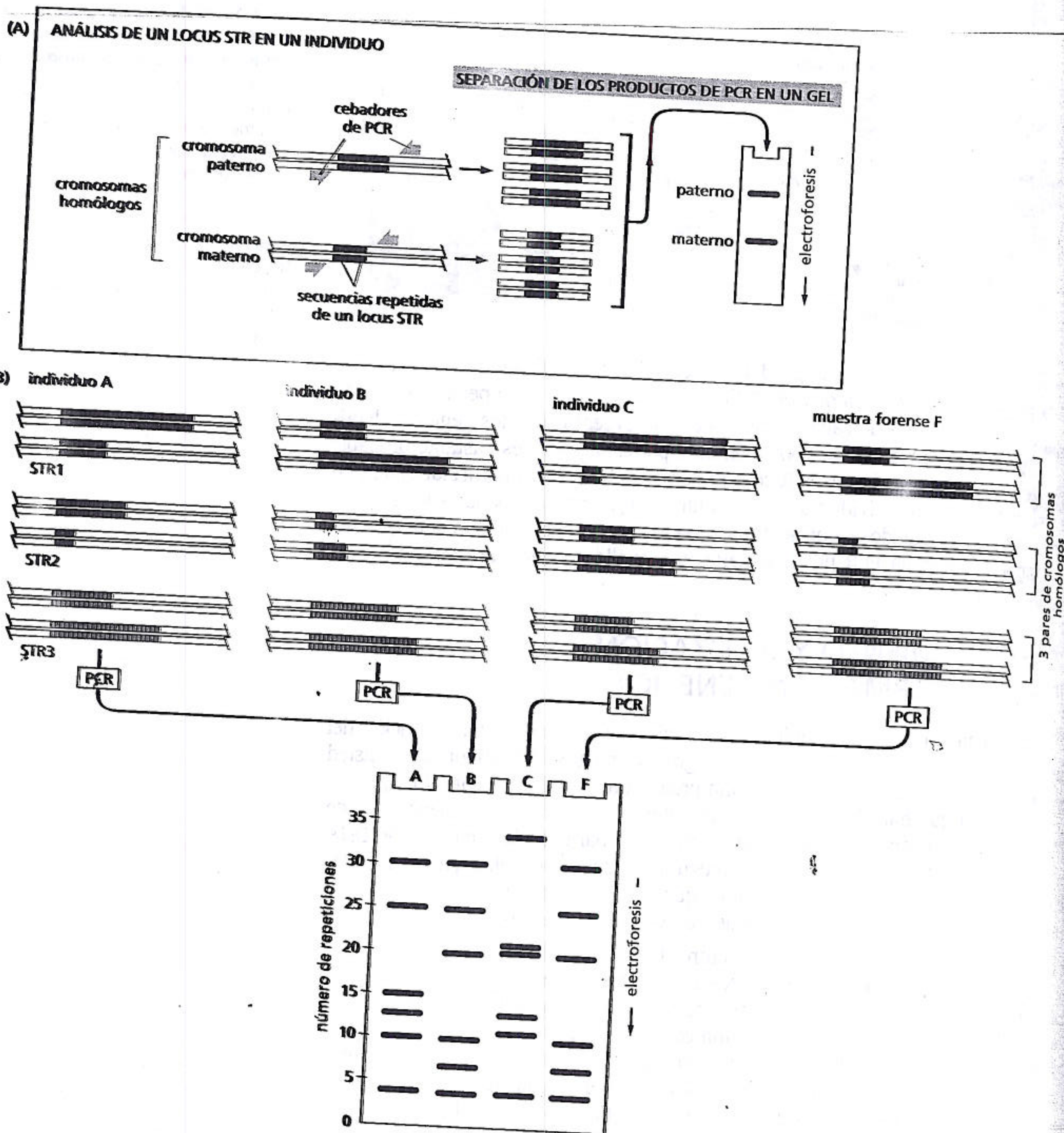


Figura 10-19. **La técnica de PCR se utiliza en la ciencia forense.** (A). Las secuencias de DNA usadas en este análisis son repeticiones cortas en tándem (*short tandem repeats;* STR) compuestas de secuencias como CACACA... o GTGTGT..., que se encuentran en varias posiciones (loci) en el genoma humano. El número de repeticiones en cada STR es muy variable en la población; fluctúan de 4 a 40 en individuos diferentes. Dada la variabilidad en estas secuencias, los individuos heredarán con frecuencia una variante diferente de cada locus STR de su madre y de su padre; por esta razón, dos individuos que no están relacionados no suelen contener el mismo par de secuencias. Una reacción de PCR que utiliza cebadores que delimitan el locus produce un par de bandas de DNA amplificado de cada individuo, una banda representa la variante STR materna y la otra representa la variante STR paterna. La longitud del DNA amplificado y, por lo tanto, su posición después de la electroforesis, dependerá del número exacto de repeticiones en el locus. (B). En el ejemplo esquemático mostrado aquí se analizan los mismos tres loci de tres sospechosos (individuos A, B y C), los que producen seis bandas para cada persona tras la electroforesis en gel de poliacrilamida. Aunque distintas personas pueden tener varias bandas en común, el patrón general es bastante distintivo de cada persona. Por consiguiente, el patrón de bandas puede servir como una "huella genética" para identificar a un individuo de manera casi exclusiva. La cuarta fila (F) contiene los productos de las mismas reacciones de PCR realizadas sobre una muestra forense. El material de partida para esta reacción de PCR puede ser un único pelo o una muestra de sangre minúscula que se dejó en la escena del crimen. Cuantos más loci se examinen más seguros podremos estar de los resultados. Cuando se estudia la variabilidad de 5-10 loci de STR diferentes, las posibilidades de que dos individuos al azar compartan la misma huella de DNA por casualidad son aproximadamente de una en 10 mil millones. En el caso que aquí se muestra, los individuos A y C pueden eliminarse del interrogatorio, mientras que el B se mantiene como claro sospechoso. Un enfoque similar se utiliza en la actualidad en forma sistemática para determinar la paternidad.

nucleotídica, en primer lugar se describen las técnicas utilizadas para secuenciar un fragmento de DNA. En segundo lugar, se analiza cómo los científicos comienzan a interpretar la información codificada en esta secuencia nucleotídica. En tercer lugar, cuando ya se dispone del gen, se hace una revisión de cómo puede utilizarse la tecnología del DNA recombinante para producir cantidades suficientes de su RNA o de su producto proteico para realizar estudios estructurales y funcionales. Y por último, se describen varias técnicas para investigar qué hace un gen dentro de una célula, un tejido o, incluso, dentro de una planta o un animal. Estos métodos revolucionaron todos los aspectos de la biología celular al proporcionar nuevas maneras de estudiar la función de los genes, las moléculas de RNA y las proteínas.

El DNA puede ser secuenciado con rapidez

A fines de la década de 1970, los investigadores desarrollaron métodos que permiten que la secuencia de nucleótidos de cualquier fragmento de DNA purificado se determine de forma simple y rápida. Estas técnicas posibilitaron la determinación de secuencias completas de nucleótidos de cientos de miles de genes y las secuencias de genomas completos de muchos organismos, entre ellos la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el gusano nematodo *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, la planta modelo *Arabidopsis thaliana* y el perro, la rata, el chimpancé, el gorila y el ser humano.

Si bien se desarrollaron varios esquemas para la secuenciación del DNA, el más utilizado es el **método didesoxi**, que se basa en la síntesis de DNA realizada in vitro ante la presencia de didesoxirribonucleósidos trifosfatos que terminan la cadena. En esta técnica, la DNA polimerasa se utiliza para producir copias parciales de fragmentos de DNA a ser secuenciados. Las reacciones de replicación del DNA se dan en condiciones que garantizan que las nuevas cadenas terminarán cuando se alcance un determinado nucleótido –A, G, C o T– (Fig. 10-20). Estas reacciones producen, al final, un grupo de copias de DNA diferentes que terminan en cada una de las posiciones en la molécula original de DNA, y de esta forma difieren en la longitud por un solo nucleótido. Las copias de DNA pueden separarse sobre la base de su longitud mediante electroforesis en gel y se puede determinar la secuencia nucleotídica del DNA original a partir del orden de los fragmentos de DNA en el gel (Fig. 10-21).

Aunque todavía se utiliza el mismo método básico, se lograron muchas mejoras. La secuenciación del DNA está ahora completamente automatizada: mecanismos

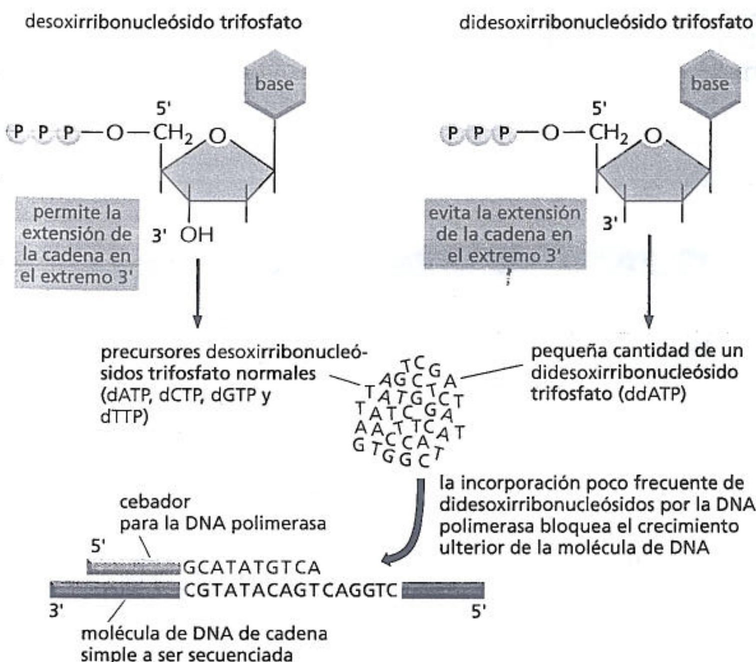


Figura 10-20. El método didesoxi de secuenciación del DNA se basa en los didesoxinucleósidos trifosfatos de la cadena de terminación. Estos didesoxirribonucleósidos trifosfatos, derivados de los desoxirribonucleósidos trifosfatos normales, carecen del grupo 3' hidroxilo. El DNA purificado se sintetiza in vitro en una mezcla que contiene moléculas de cadena simple del DNA a ser secuenciado (*gris*), la enzima DNA polimerasa, un cebador corto de DNA (*anaranjado*) para permitir que la polimerasa comience la replicación, y los cuatro desoxirribonucleósidos trifosfatos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP: *azul* A, C, G y T). Si un didesoxirribonucleósido análogo (*rojo*) a uno de estos nucleótidos también está presente en la mezcla de nucleótidos, se incorporará en una cadena de DNA en crecimiento. La cadena ahora carece de un grupo 3'-OH, se bloquea el agregado del siguiente nucleótido y la cadena de DNA termina en este punto. El didesoxi ATP (ddATP, simbolizado aquí con una A de color *rojo*) compite con un exceso de desoxiATP normal (dATP, A de color *azul*), de modo que se incorpora ddATP ocasionalmente, al azar, en la cadena de DNA en crecimiento. Esta reacción de mezcla producirá, por último, un grupo de DNA de diferentes longitudes complementarias al DNA molde que se está secuenciando y termina en cada una de las A diferentes (véase Fig. 10-21).Aquí sólo se muestra uno de los muchos productos posibles.

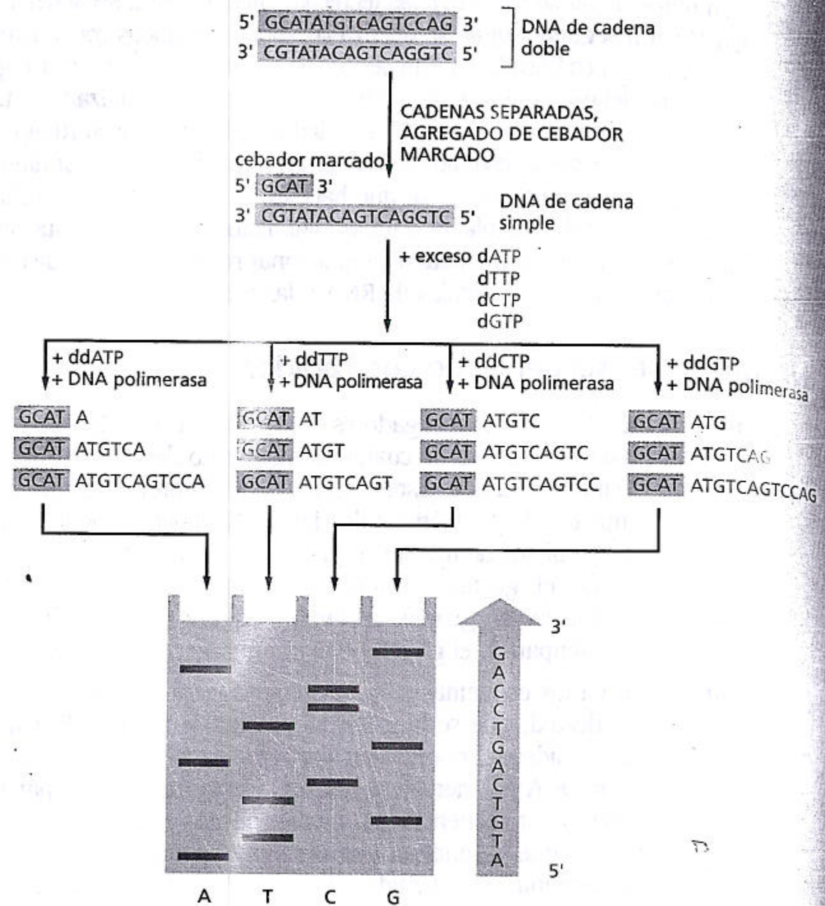


Figura 10-21. El método didesoxi produce un grupo de moléculas de DNA que difieren por un único nucleótido. Para determinar la secuencia completa de un fragmento de DNA, el DNA de doble cadena primero es separado en sus cadenas simples y una de las cadenas se utiliza como molde para la secuenciación. Se utilizan cuatro didesoxirribonucleósidos trifosfatos terminadores de cadena diferentes (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP, nuevamente mostrados en *rojo*) en cuatro reacciones de síntesis de DNA separadas sobre las copias del mismo molde de DNA de cadena simple (*gris*). Cada reacción produce un grupo de copias de DNA que terminan en diferentes puntos en esta secuencia. Los productos de estas cuatro reacciones se separan mediante electroforesis en cuatro filas paralelas de un gel de poliacrilamida (marcado aquí A, T, C y G). Los fragmentos recién sintetizados se detectan mediante una marca (radiactiva o fluorescente) que se ha incorporado en el cebador o en uno de los desoxirribonucleósidos trifosfatos utilizados para extender la cadena de DNA. En cada línea las bandas representan fragmentos que han sido terminados en un determinado nucleótido (p. ej., A en la fila más a la izquierda) pero en diferentes posiciones en el DNA. Mediante la lectura en orden de estas filas, comenzando en la parte inferior del gel y realizándolo a lo largo de todas las filas, puede determinarse la secuencia de DNA de la cadena recién sintetizada. La secuencia se muestra en la *flecha verde* a la derecha del gel. Esta secuencia es idéntica a la de la cadena 5' → 3' (*verde*) del DNA de doble cadena original.

de robótica mezclan los reactivos y luego siembran, corren y leen el orden de las bases de los nucleótidos en el gel. Este proceso se simplifica con el uso de nucleótidos que terminan la cadena en el que cada uno está marcado con un colorante fluorescente de color diferente; de este modo, las cuatro reacciones de síntesis pueden suceder en el mismo tubo y los productos pueden separarse en una única fila de la corrida en el gel. Un detector posicionado cerca de la base del gel lee y registra el color de la marca fluorescente sobre cada banda a medida que ésta se desplaza por delante y un ordenador almacena la secuencia para su análisis posterior (Fig. 10-22). En Biología experimental, pp. 348-349, se describe el modo en que los investigadores pueden reunir los tramos de una secuencia completa a partir de esta información.

De hecho, la obtención de la secuencia de un gen o un genoma entero es sólo el principio. Como se describió en el capítulo anterior es un gran desafío buscar una secuencia nucleotídica y determinar, por ejemplo, dónde comienza y dónde termi-

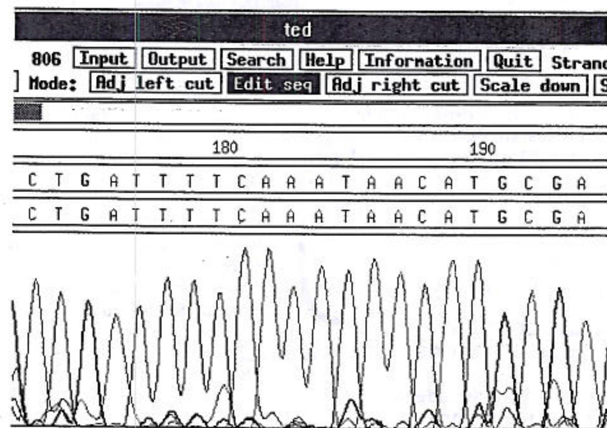


Figura 10-22. La secuenciación del DNA ahora está completamente automatizada. Aquí se muestra una mínima parte de los datos obtenidos de una secuenciación automática como aparece en la pantalla del ordenador. Cada pico coloreado representa un nucleótido de la secuencia de DNA; puede leerse un fragmento de la secuencia de nucleótidos entre las posiciones 173 y 194 en relación con el comienzo de la secuencia. Este ejemplo está tomado del proyecto internacional que determinó la secuencia completa de nucleótidos del genoma de la planta *Arabidopsis thaliana*. (Cortesía de George Murphy).

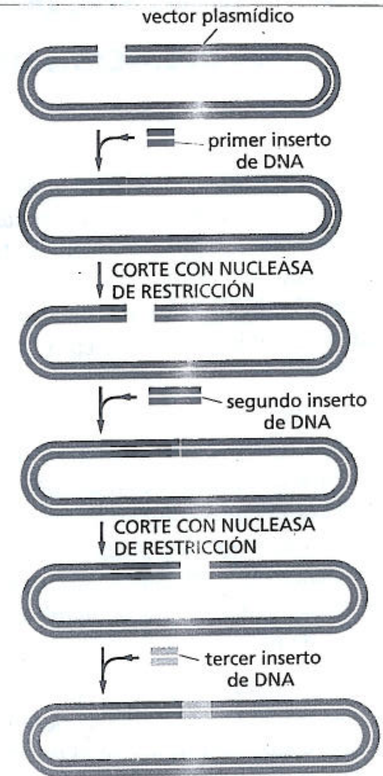


Figura 10-23. La clonación en serie de DNA puede utilizarse para ensamblar juntos un grupo de fragmentos de DNA derivados de distintas fuentes. Después de cada etapa de inserción del DNA el plásmido recombinante se clona para purificar y amplificar el DNA nuevo (véase Fig. 10-10). La molécula recombinante se corta otra vez con una nucleasa de restricción, como se indica y se utiliza como un vector de clonación para el siguiente fragmento de DNA.

na el gen, y qué trozos son importantes para regular su actividad. Incluso con esta información no siempre es evidente qué función tiene el gen en la fisiología de un organismo. Para hacerlo, los biólogos necesitan manipular cada gen en forma más directa.

Es posible construir moléculas de DNA completamente nuevas

Estudiar la función de un gen implica la construcción de moléculas de DNA recombinantes. Como ya se describió, estas moléculas recombinantes suelen formarse mediante el uso de DNA ligasa para reunir dos segmentos de DNA, incluso el DNA que proviene de organismos diferentes o de DNA que fue sintetizado en forma química (véase Fig. 10-6). Mediante clonaciones repetidas de DNA pueden aislarse y volverse a unir los DNA de distintas fuentes en varias combinaciones para producir moléculas de DNA de cualquier secuencia deseada (Fig. 10-23).

La capacidad de generar moléculas de DNA diseñadas por encargo permite que los científicos manipulen los genes de diversas maneras útiles. Pueden introducir mutaciones que alteran la actividad de un gen, un enfoque que podría revelar la función normal del gen; pueden diseñar proteínas híbridas que contienen, por ejemplo, una proteína marcadora fluorescente adherida a la proteína de interés. Estas fusiones de proteínas permiten que los científicos determinen el sitio en el que se localiza una proteína dentro de una célula o un organismo. Por último, en uno de los usos prácticos más inmediatos de la tecnología recombinante, los científicos pueden dirigir la producción de niveles elevados de proteínas celulares que, normalmente son poco frecuentes, como se describe a continuación.

Proteínas celulares poco frecuentes pueden elaborarse en grandes cantidades utilizando DNA clonado

La mayor parte de los miles de proteínas diferentes en una célula eucarionte, muchas con funciones importantes, están presentes en cantidades muy pequeñas. Resultaba muy difícil, casi imposible, obtener cantidades suficientes de estas proteínas en la forma pura que permitiera su estudio. Una de las contribuciones más importantes de la clonación de DNA y de la ingeniería genética a la biología celular es la producción de cualquier proteína, incluso las poco frecuentes, en cantidades casi ilimitadas.

Esta producción de proteínas en niveles elevados suele lograrse mediante el uso de vectores especialmente diseñados conocidos como *vectores de expresión*. A diferencia de los vectores de clonación explicados al comienzo, éstos comprenden señales de transcripción y de traducción adecuadas de modo que un gen insertado se expresa en niveles muy elevados (Fig. 10-24). Distintos vectores de expresión se diseñan para el uso en células bacterianas, de levaduras, de insectos o de mamíferos, cada una con las secuencias reguladoras apropiadas para la transcripción y la traducción en estas células. El vector de expresión se replica en cada ciclo

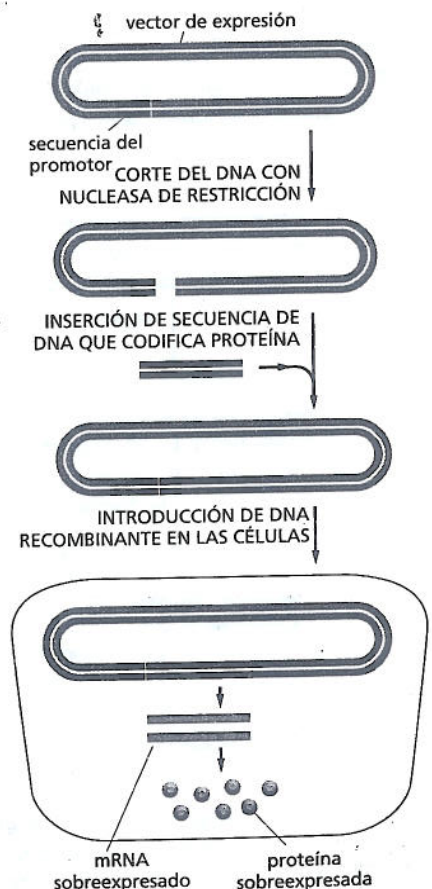


Figura 10-24. Se pueden producir grandes cantidades de una proteína a partir de una secuencia de DNA que codifica proteína clonada en un vector de expresión y luego introducida en las células. Se diseñó un vector plasmídico mediante ingeniería genética para contener un promotor muy activo, que conduce a la producción de cantidades inusualmente grandes de mRNA a partir de un gen adyacente que codifica proteína y que se ha insertado en el vector plasmídico. De acuerdo con las características del vector de clonación, el plásmido se introduce en las células bacterianas, de levadura, de insecto o de mamífero, donde el gen insertado se transcribe y se traduce eficientemente en proteína.

SECUENCIACIÓN DEL GENOMA HUMANO

Cuando la secuenciación del DNA se automatizó por completo, la determinación del orden de los nucleótidos en una parte del DNA pasó de ser un elaborado proyecto de tesis de doctorado a una tarea rutinaria de laboratorio. Poner DNA en la máquina de secuenciación, agregar los reactivos necesarios y los resultados solicitados: el orden de las bases A, T, G y C. Nada podría ser más simple.

Entonces, ¿por qué la secuenciación del genoma humano fue una tarea tan formidable? En gran parte debido a su tamaño. Los métodos de secuenciación del DNA, en la actualidad, están limitados por el tamaño físico del gel que se utiliza para separar los fragmentos marcados (véase Fig. 10-21). A lo sumo, sólo algunos cientos de nucleótidos pueden leerse a partir de un solo gel. Entonces, ¿cómo se puede manipular un genoma que contiene miles de millones de nucleótidos?

La solución es romper el genoma en fragmentos y secuenciar las partes más pequeñas. El principal desafío luego fue colocar los fragmentos cortos agrupados en el orden correcto para producir una secuencia completa de un cromosoma entero y, por último, un genoma entero. Para llevar a cabo esta rotura y nuevo ensamblado, los investigadores han adoptado dos estrategias diferentes para la secuenciación de los genomas: el método de secuenciación aleatoria y el enfoque clon por clon.

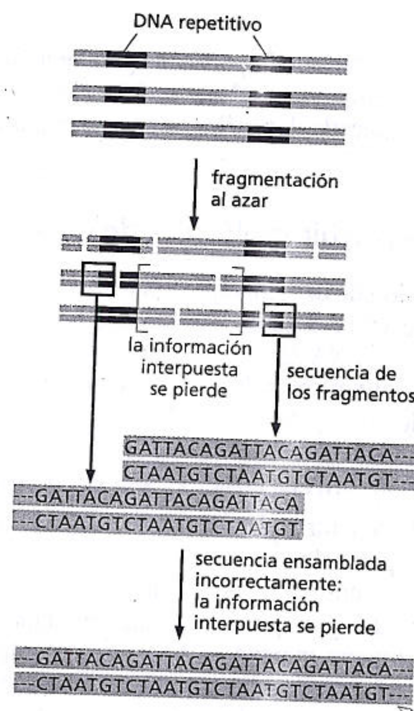


Figura 10-26. Las secuencias repetitivas dificultan el ensamblado correcto. En este ejemplo, el DNA contiene dos segmentos de DNA repetitivo, cada uno formado por muchas copias de la secuencia GATTACA. Cuando se analizan las secuencias resultantes, dos fragmentos de diferentes partes del DNA aparecen superpuestos. El ensamblado incorrecto de estas secuencias deriva en una pérdida de información (entre corchetes) que se localiza entre las repeticiones originales.

Secuenciación aleatoria *(shotgun)*

El enfoque más sencillo para secuenciar un genoma es romperlo en fragmentos al azar, secuenciar cada uno de ellos y después con un ordenador organizar estas partes utilizando secuencias superpuestas para guiar el ensamblado (Fig 10-25). Este enfoque se denomina estrategia de secuenciación aleatoria *(shotgun)*. Como una analogía, imagínese trozando varias copias de *Introducción a la biología celular (IBC)* en pequeñas partes, mezclándolas y luego tratando de obtener una copia nuevamente agrupada del libro reuniendo las palabras o frases u oraciones que aparecen sobre los distintos papeles –se requerirían varias copias para generar la superposición necesaria para el reensamblado–. Esto se podría realizar, pero sería mucho más fácil si el libro tuviese solamente dos páginas.

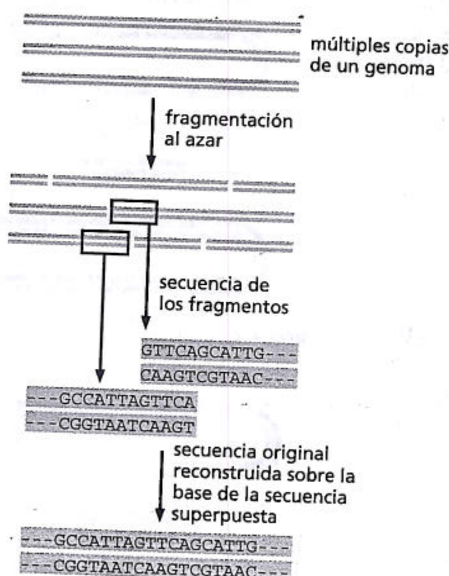


Figura 10-25. La secuenciación aleatoria es el método de elección para la secuenciación de pequeños genomas. En primer lugar se rompe el genoma en fragmentos mucho más pequeños superpuestos. Después, cada fragmento es secuenciado y el genoma se ensambla sobre la base de las secuencias superpuestas.

Por esta razón, un enfoque aleatorio directo es la estrategia de elección sólo para la secuenciación de pequeños genomas. El método mostró su valor en 1995, cuando se empleó para secuenciar el genoma de la bacteria infecciosa *Haemophilus influenzae*, el primer organismo en el que se determinó su secuencia genómica completa. El problema de la secuenciación aleatoria es que el proceso de reensamblado puede ser alterado por secuencias repetitivas de nucleótidos (Fig. 10-26). Aunque es raro en las bacterias, estas secuencias forman una gran parte del genoma de los vertebrados (Fig. 9-29). Segmentos de DNA altamente repetitivos tornan difícil agrupar de nuevo secuencias de fragmentos de DNA en forma exacta. Regresando a la analogía de *IBC*, este capítulo sólo contiene más de una docena de

ejemplos de frases "el genoma humano". Imagine que una hoja de papel de los *IBC* trozados contienen la información "Entonces, por qué la secuenciación del genoma humano fue una tarea tan formidable?" (que aparece casi al comienzo de esta sección); otra contiene la información "los investigadores de la secuencia del genoma humano combinaron la secuenciación aleatoria con un enfoque clon por clon" (que aparece en el siguiente párrafo). Usted podría estar tentado de unir estos dos segmentos juntos sobre la base de la frase superpuesta "el genoma humano". Pero podría llegar a una afirmación sin sentido: "Entonces por qué se secuenció el genoma humano combinó la secuenciación aleatoria con un enfoque clon por clon". No sólo esto, sino que con este ensamblado de *IBC* se eliminarán varios párrafos de texto importantes que originalmente aparecían entre estos dos ejemplos de "el genoma humano".

Y esto es sólo en esta sección. La frase "el genoma humano" aparece en casi todos los capítulos de este libro. Estas repeticiones representan el problema de colocar cada fragmento en su contexto correcto. Para resolver este problema de ensamblado, los investigadores de la secuencia del genoma humano combinaron la secuenciación aleatoria con un enfoque de clon por clon.

Clon por clon

En este enfoque los investigadores comenzaron por romper el genoma en fragmentos superpuestos, de 100 a 200 kilobases de tamaño. A continuación, unieron estos segmentos a BAC (cromosomas artificiales bacterianos) y los insertaron en *E. coli.* (Los BAC son similares a los plásmidos bacterianos descritos antes en este capítulo, salvo que portan piezas mucho más grandes de DNA). Cuando las bacterias se dividieron, copiaron los BAC y produjeron de este modo una colección de fragmentos clonados superpuestos (véase Fig. 10-11).

Los investigadores mapearon después cada uno de estos fragmentos de DNA en su posición correcta en el genoma. Para hacerlo utilizaron enzimas de restricción para generar una "huella genética" de cada clon (**Fig. 10-27**). Las localizaciones de los sitios de las enzimas de restricción en cada fragmento le permitieron a los investigadores mapear cada clon BAC sobre un mapa de restricción generado previamente sobre la totalidad del genoma humano.

Con el conocimiento de las posiciones relativas de los fragmentos clonados, los investigadores seleccionaron luego unos 30.000 BAC para romper cada unos de ellos en fragmentos más pequeños y determinar la secuencia de nucleótidos de cada BAC en forma separada utilizando el método aleatorio. Más tarde pudieron ensamblar la totalidad de la secuencia del genoma mediante la unión de las secuencias de miles de BAC individuales que abarcan la longitud del genoma.

La belleza de este enfoque radica en que es relativamente fácil determinar con exactitud el lugar que ocupan en el genoma los fragmentos de BAC. Esta etapa de mapeo reduce la probabilidad de que las regiones que contienen secuencias repetitivas sean ensambladas de modo incorrecto y elimina casi por completo la posibilidad de que las secuencias de cromosomas diferentes sean agrupadas en forma errónea. Si se retorna la analogía del libro de texto, el enfoque basado en BAC es similar a la primera en la separación de sus copias de *IBC* en páginas individuales y luego cortando cada página en sus propias pilas separadas. Debería ser mucho más fácil volver a agrupar el libro con una pila de fragmentos que contuvieran palabras de la página 1, una segunda pila de la página 2, etc. y prácticamente no existen posibilidades de unir en forma errónea una oración de la página 40 en el medio de un párrafo de la página 412.

Todos juntos ahora

El enfoque clon por clon produjo el primer borrador de la secuencia del **genoma humano** en el año 2000 y la secuencia completa se logró en el año 2004. Como un conjunto de instrucciones que especifican todas las moléculas de RNA y de proteína necesarias para construir un ser humano, esta cadena de trozos genéticos mantiene los secretos del desarrollo, de la fisiología y de la medicina humana. Pero la secuencia humana también será de gran valor para los investigadores interesados en genómica comparada o en la fisiología de otros organismos; será fácil el ensamblado de las secuencias de nucleótidos de otros genomas de mamíferos: ratones, ratas, perros y otros primates. Asimismo, hizo posible determinar las secuencias nucleotídicas de los genomas de seres humanos individuales al proveer un marco en el que las secuencias nuevas pueden ser simplemente superpuestas. Por lo tanto, la secuencia humana probablemente es el único genoma de mamífero completado de este modo detallado y metodológico. Gracias al proyecto del genoma humano se pudo comenzar a entrever el alto grado de diversidad molecular presente en nuestra propia especie.

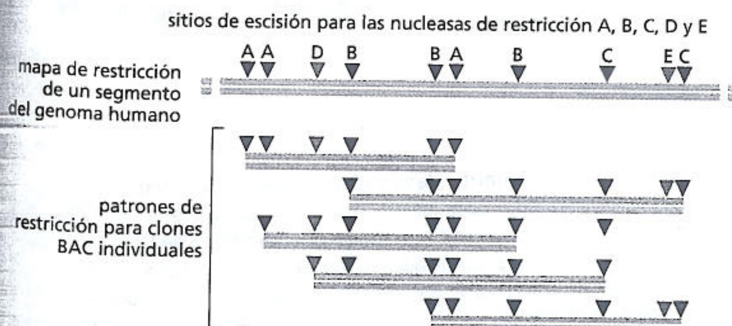


Figura 10-27. Cada clon BAC se posiciona sobre el mapa físico de la secuencia del genoma humano sobre la base de sus "huellas genéticas" obtenidas mediante enzimas de restricción. Los clones son digeridos con endonucleasas de restricción y se registran los sitios en los que cortan las diferentes enzimas a cada clon. El patrón distintivo de los sitios de restricción permite a los investigadores ordenar los fragmentos y colocarlos sobre el mapa de restricción del genoma humano generado previamente.

de división celular y da origen a un cultivo celular capaz de sintetizar cantidades muy grandes de la proteína de interés. Debido a que la proteína codificada por el vector de expresión suele producirse dentro de la célula, ésta se debe purificar por cromatografía a partir de las proteínas de la célula hospedadora después de la lisis celular; pero como es tan abundante en el lisado celular (con frecuencia comprende de entre el 1 y el 10% de la proteína celular total), la purificación se suele lograr fácilmente en sólo pocos pasos.

Esta tecnología, también, se utiliza en la actualidad para producir grandes cantidades de proteínas útiles en medicina. La proteína del factor VIII, por ejemplo, actualmente se elabora en forma comercial a partir de cultivos de células de mamífero obtenidas mediante ingeniería genética y, por consiguiente, libres de contaminación viral. También se producen de esta forma muchas otras proteínas útiles, por ejemplo, hormonas (como la insulina), factores de crecimiento, agentes antineoplásicos y proteínas de la envoltura viral para el uso en vacunas.

El uso de vectores de expresión también permitió que los científicos produjeran proteínas de interés biológico en cantidades suficientes para estudios estructurales y funcionales que antes eran imposibles. Con grandes cantidades de una proteína, los científicos pueden analizar su actividad biológica o bioquímica y, tal vez, incluso formar cristales que puedan ser adecuados para determinar su estructura tridimensional por cristalografía de rayos X (véase Biología experimental, pp. 158-160). Las técnicas de DNA recombinante permiten a los científicos comenzar con una proteína de función desconocida, aislar el gen que la codifica y producir suficiente cantidad de proteína como para poder investigar su estructura y actividad (Fig. 10-28).

Los genes indicadores y la hibridación in situ pueden revelar cuándo y dónde se expresa un gen

Ni la secuencia completa de nucleótidos de un gen, ni la estructura tridimensional de la proteína es suficiente para deducir la función de una proteína a menos que ésta se encuentre estrechamente relacionada con una proteína ya estudiada. Muchas proteínas –como las que desempeñan un papel estructural en la célula o forman parte de un gran complejo multienzimático– no tendrán ninguna actividad bioquímica obvia por sí mismas. Incluso las que tienen actividades conocidas (p. ej., proteincinasas) pueden, en principio, participar en un gran número de vías meta-

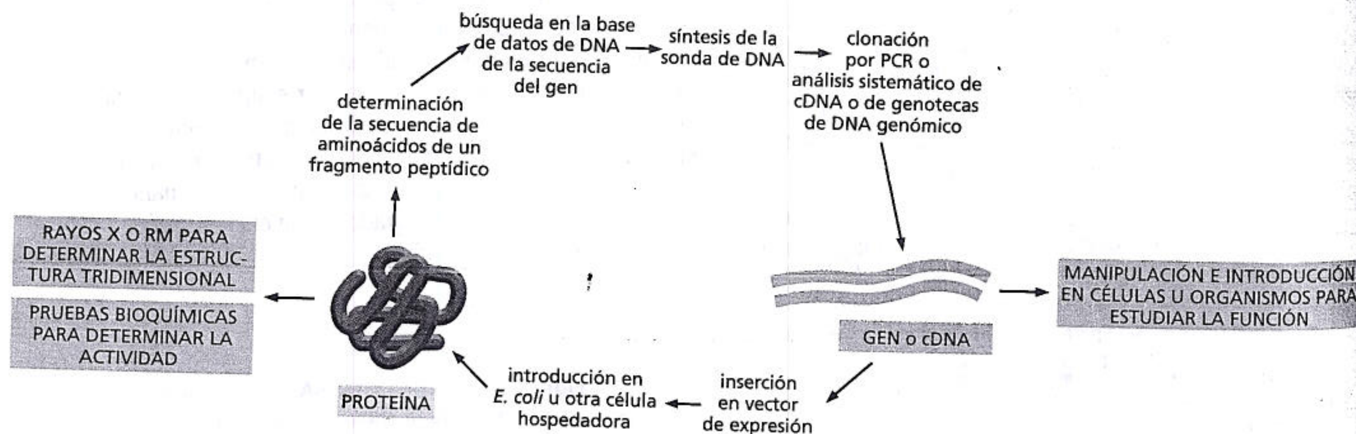
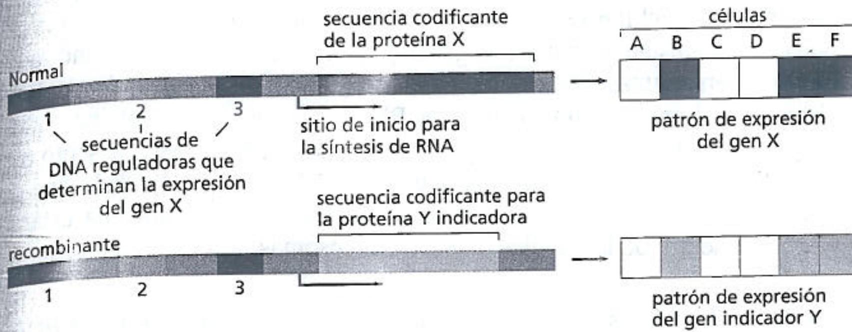
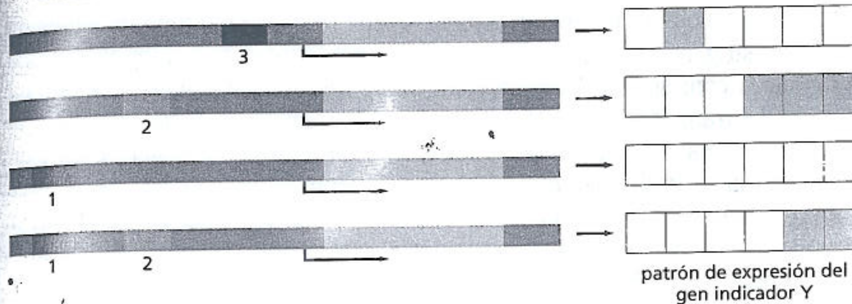


Figura 10-28. Las técnicas de DNA recombinante posibilitan desplazarse experimentalmente desde el gen hasta la proteína y desde la proteína hasta el gen. Una pequeña cantidad de proteína purificada se emplea para obtener una secuencia parcial de aminoácidos. Esto proporciona información de la secuencia que permite que el gen correspondiente sea reconocido a partir de una genoteca de DNA por hibridación del DNA (véase Fig. 10-12) o se clone y amplifique por PCR a partir de un genoma secuenciado (véase Fig. 10-17). Una vez aislado y secuenciado el gen puede utilizarse su secuencia codificante de proteínas para diseñar un DNA que luego puede emplearse para producir grandes cantidades de la proteína a partir de células obtenidas por ingeniería genética (véase Fig. 10-24). Así, esta proteína puede estudiarse desde el punto de vista bioquímico o estructural. Además de producir proteína, el gen o el DNA puede ser manipulado e introducido en células u organismos para estudiar su función.





CONCLUSIONES —la secuencia reguladora 3 activa el gen X en la célula B
—la secuencia reguladora 2 activa el gen X en las células D, E y F
—la secuencia reguladora 1 desactiva el gen X en la célula D

Figura 10-29. Los genes indicadores (*reporter genes*) se utilizan para determinar el patrón de expresión de un gen. (A) Supongamos que se quiere encontrar qué tipos celulares expresan la proteína X, pero es difícil detectarla directamente. La secuencia que codifica la proteína X es reemplazada por la secuencia que codifica la proteína indicadora Y, que puede ser observada en forma visual; por ejemplo, la proteína Y podría ser fluorescente. La proteína Y se expresará ahora bajo el control de las regiones reguladoras del gen X (marcadas aquí como 1, 2 y 3). (B) Para probar qué regiones reguladoras controlan la expresión en tipos celulares particulares se realizan varias combinaciones de la región codificante Y y las regiones reguladoras. Estas moléculas de DNA recombinante se prueban para determinar la expresión después de su introducción en los diferentes tipos celulares. Para experimentos en las células eucariontes dos proteínas indicadoras usadas con frecuencia son las enzimas β-galactosidasa (véase Fig. 8-15C) y la proteína fluorescente verde –GFP; *green fluorescent protein*– (véase Fig. 10-30).

bólicas diferentes en la célula; en otras palabras, no siempre resulta claro a partir de sus actividades bioquímicas el modo en que las proteínas actúan en la célula.

En muchos casos, las claves para la función proteica se obtienen al analizar cuándo y dónde se expresa el gen en la célula o en el organismo como un todo. La determinación del patrón y del momento de expresión de un gen puede realizarse mediante la unión de la región reguladora de un gen, en estudio junto a un **gen indicador** (*reporter gene*), es decir, un gen cuya actividad pueda ser observada con facilidad. Como se explicó en detalle en el capítulo 8, la expresión génica es controlada mediante secuencias de DNA reguladoras, que suelen localizarse en dirección 3' de la región codificante y que no se transcriben por sí mismas. Estas secuencias reguladoras, que controlan cuáles son las células que expresarán un gen y en qué condiciones, también pueden obtenerse para controlar la expresión de un gen indicador. El nivel, el momento y la especificidad celular de producción de una proteína indicadora reflejarán la función del gen original así como la acción de las secuencias reguladoras que pertenecen a éste (**Fig. 10-29**). En la mayor parte de los casos, la expresión de un gen indicador se observa mediante el rastreo de la fluorescencia o la actividad enzimática de este producto proteico.

En la actualidad, una de las proteínas indicadoras popular más utilizadas es la **proteína fluorescente verde** (GFP; *green fluorescent protein*), la molécula que le proporciona a la luminiscente medusa su brillo verdoso. En muchos casos, el gen que codifica GFP puede simplemente unirse a un extremo del gen que codifica una proteína de interés. Con frecuencia, la *proteína de fusión GFP* obtenida se comporta del mismo modo que la proteína original y su distribución en la célula o en el organismo puede observarse, con facilidad, simplemente siguiendo su fluorescencia por microscopia (**Fig. 10-30**). La estrategia de fusión de la proteína GFP se transformó en un método habitual para determinar la distribución y rastrear el movimiento de cualquier proteína de interés en los organismos vivos. A partir de esta información se conocieron muchos aspectos de la función proteica en el organismo.

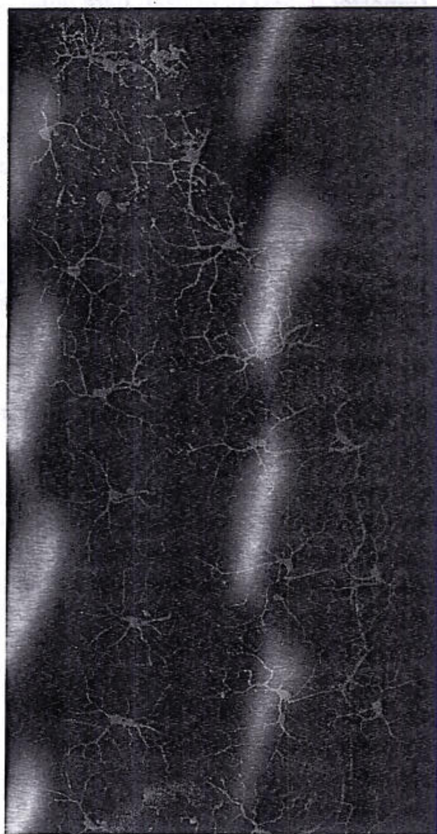


Figura 10-30. **La proteína fluorescente verde (GFP) se puede usar para identificar células específicas en un animal vivo.** Para este experimento realizado en la mosca de la fruta, el gen GFP se unió (por técnicas de DNA recombinante) a un promotor de mosca que es activo sólo en un grupo especializado de neuronas. Esta imagen de un embrión de mosca vivo fue captada por un microscopio de fluorescencia y muestra cerca de 20 neuronas, cada una con largas proyecciones (axones y dendritas) que se comunican con otras células (no fluorescentes). Estas neuronas se localizan justo debajo de la superficie del embrión y le permiten percibir su ambiente inmediato. (De W.B. Grueber et al. *Curr. Biol.* 13:618-626, 2003. Con autorización de Elsevier).

También es posible observar directamente el momento y el lugar en que se expresa el producto del mRNA de un gen. En casi todos los casos, esta estrategia proporciona la misma información general que el enfoque del gen indicador. Sin embargo, en algunas situaciones el método de elección es el estudio del RNA: por ejemplo, si el producto final del gen es RNA en lugar de una proteína. La técnica que se basa en los principios de hibridación del ácido nucleico descrito antes se denomina **hibridación in situ** (del latín *in situ*, "en el lugar"), dado que permite localizar secuencias específicas de ácido nucleico mientras todavía están en su ubicación dentro de las células o de los cromosomas.

La hibridación sobre micromatrices de DNA permite analizar la expresión de miles de genes al mismo tiempo

En el capítulo 8 se vio que la célula expresa sólo un subgrupo de genes disponibles en su genoma. Uno de los usos más importantes de la hibridación de ácidos nucleicos consiste en determinar en una población de células exactamente qué genes se transcriben a mRNA y cuáles son silenciosos desde el punto de vista transcripcional. Los métodos de hibridación in situ les permiten a los científicos estudiar la expresión de un gen, o relativamente escasos genes, en un momento. Sin embargo, en la década de 1990 los investigadores desarrollaron un método nuevo, denominado **micromatriz de DNA**, que permite estudiar, al mismo tiempo, los productos de RNA de cientos a miles de genes. Mediante el análisis de la expresión de tantos genes simultáneamente se pueden comenzar a identificar y estudiar los patrones de expresión génicos complejos que subyacen en la fisiología celular: es posible ver qué genes se activan (o desactivan) cuando la célula crece, se divide o responde a hormonas, toxinas o infecciones.

Las micromatrices de DNA son simplemente portaobjetos de vidrio de microscopio sembrados con un gran número de fragmentos de DNA, cada uno con una secuencia de nucleótidos que sirve como una sonda para un gen específico. La matriz más densa contiene decenas de miles de estos fragmentos en un área más pequeña que una estampilla postal, que permite que los patrones de expresión de genomas enteros se estudien en un único experimento. Algunos tipos de micromatrices transportan fragmentos de DNA que corresponden a genes enteros que son depositados sobre los portaobjetos por un robot. Otros tipos contienen moléculas cortas de DNA de cadena simple que se sintetizan sobre la superficie de la lámina de vidrio con el empleo de técnicas similares a las que se utilizan para grabar circuitos sobre los chips de los ordenadores. En cada caso se conoce la secuencia exacta y la posición de cada sonda de DNA sobre el chip.

Para utilizar una micromatriz de DNA y analizar en forma simultánea la expresión de cada gen en una célula se extrae el mRNA de las células en estudio y se copia hacia una forma de cDNA (véase Fig. 10-13). A continuación, este cDNA se marca con una sonda fluorescente. La micromatriz se incuba con la muestra de cDNA marcado permitiendo que se produzca la hibridación (Fig. 10-33). Después, se lava la matriz para eliminar las moléculas que no se unieron y se identifican con un microscopio automatizado las posiciones en las que los fragmentos de DNA marcados en forma fluorescente se hibridaron por medio de apareamiento de bases complementarias. Las posiciones de la matriz se hacen coincidir con los genes específicos cuyo DNA se depositó originalmente en cada posición.

Las micromatrices de DNA se han utilizado para varios estudios, desde los cambios en la expresión génica involucrados en la maduración de las fresas, hasta las "huellas" genéticas de diferentes tipos de células cancerígenas humanas. Las com-

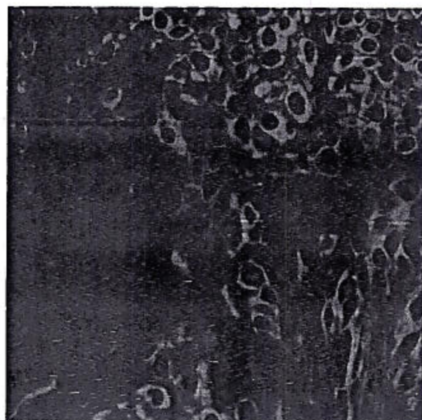


Figura 10-31. **La hibridación in situ se puede usar para detectar la presencia de un virus en células.** En esta microfotografía, los núcleos de células infectadas por el papilomavirus humano (HPV) están teñidas de color rosa por una sonda que reconoce una secuencia de DNA viral. Los núcleos de todas las células están teñidos de *azul*, aunque esto se encuentra enmascarado por la tinción *rosa* en las células infectadas. El citoplasma de todas las células está teñido de color *verde*. (Cortesía de Hogne Reed Nilsen).



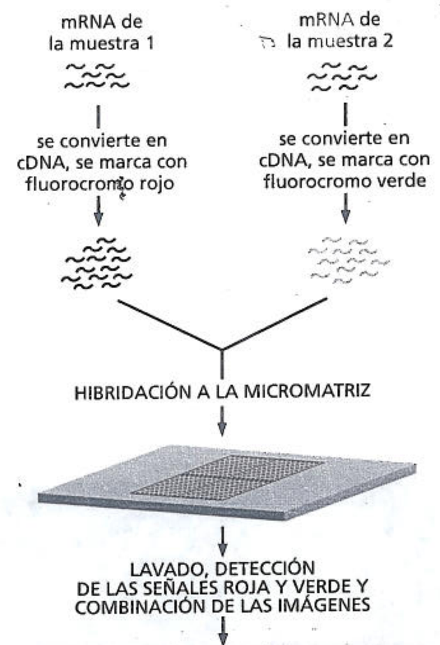
Figura 10-32. La hibridación in situ se puede usar para localizar genes sobre los cromosomas. Aquí, se han utilizado seis sondas de DNA diferentes para marcar la localización de sus respectivas secuencias nucleotídicas sobre el cromosoma 5 humano aislado en el estadio de metafase de la mitosis (véanse Fig. 5-16 y Lámina 18-1, pp. 625-627). Las sondas de DNA se han marcado químicamente y se detectan mediante anticuerpos fluorescentes específicos para la marca química. Se muestran las copias materna y paterna del cromosoma 5 alineadas. Cada sonda produce dos puntos sobre cada cromosoma debido a que los cromosomas que experimentan mitosis ya han replicado su DNA y por esta razón cada cromosoma contiene dos hélices de DNA idénticas. La técnica empleada aquí recibe el acrónimo FISH, por *fluorescence in situ hybridization* –hibridación in situ con sondas fluorescentes– (Cortesía de David C. Ward).

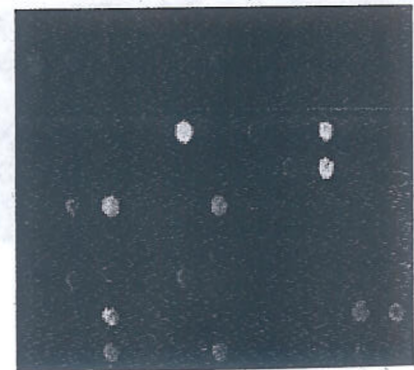
paraciones de los perfiles de expresión génica de los cánceres humanos, por ejemplo, se pueden emplear para distinguir, con facilidad, un tipo de célula cancerígena de otra. Al relacionar estos patrones de expresión con los datos clínicos reunidos para cada cáncer –incluida la rapidez con la que avanza y la respuesta al tratamiento– sería posible predecir si determinado paciente responderá a un tipo específico de tratamiento. De este modo, los "perfiles" de las células cancerígenas basados en micromatrices probablemente llevarán a tratamientos más precisos para esta enfermedad, con frecuencia, mortal.

Los enfoques genéticos pueden revelar la función de un gen

Los biólogos celulares desean determinar el modo en que los genes, y los RNA y las proteínas que éstos codifican, funcionan en un organismo intacto. Antes del advenimiento de la clonación génica se descubrieron las funciones de la mayoría de los genes mediante la identificación y el estudio de organismos mutantes. En el enfoque genético "clásico" se comienza por aislar mutantes que tienen un aspecto interesante o inusual: moscas de la fruta con ojos blancos o alas rizadas (abarquilladas) o acortadas. Trabajando hacia atrás desde este **fenotipo** –el aspecto o comportamiento del individuo– se determina luego el **genotipo** del organismo, la forma del gen responsable de esta característica. El enfoque genético clásico es fácilmente aplicable a los organismos que se reproducen con rapidez y pueden ser mutados con facilidad en el laboratorio, como bacterias, levaduras, gusanos nematodos y moscas de la fruta.

La tecnología de DNA recombinante permitió un tipo diferente de enfoque genético. En lugar de comenzar con un mutante generado al azar y utilizarlo para identificar un gen y su proteína, se puede comenzar con un gen clonado y procesado para producir mutaciones in vitro. Después, mediante la reintroducción del gen alterado al organismo del cual originalmente provenía se produce un organismo mutante en el que puede revelarse la función del gen. Con estas técnicas se puede alterar la secuencia codificante de un gen clonado para cambiar las propiedades





pequeña región de la micromatriz que representa la expresión de 110 genes

Figura 10-33. Las micromatrices de DNA se utilizan para estudiar la expresión de cientos de miles de genes en forma simultánea. En este ejemplo, el mRNA se recolecta de dos muestras celulares diferentes para la comparación directa de sus niveles relativos de expresión génica, por ejemplo, células tratadas con una hormona y células sin tratar del mismo tipo. Estas muestras se convierten en cDNA y se marcan, una con un fluorocromo rojo, la otra con un fluorocromo verde. Las muestras marcadas se mezclan y luego hibridan la micromatriz. Después de la incubación se lava la matriz y se observa la fluorescencia. Se muestra sólo una pequeña proporción de la micromatriz; ésta representa 110 genes. Las *manchas rojas* indican que el gen en la muestra 1 se expresa en un nivel más elevado que el gen correspondiente en la muestra 2 y las *manchas verdes* indican que la expresión del gen es más vigorosa en la muestra 2 que en la muestra 1. Las *manchas amarillas* revelan genes que expresan niveles similares en ambas muestras celulares. Las manchas oscuras indican que hay poca o nada de expresión del gen cuyo fragmento se localiza en esa posición en la matriz.

funcionales del producto proteico o incluso para eliminarlo en su totalidad. Alternativamente, la región reguladora del gen puede modificarse de modo que se altere la cantidad de proteína producida o que el gen se exprese en un tipo celular diferente del normal o en un momento diferente durante el desarrollo.

La capacidad para manipular el DNA in vitro permite introducir mutaciones precisas, y así se pueden alterar los genes de formas muy sutiles, útil para cambiar en tan solo uno o pocos aminoácidos la proteína que codifica el gen. El uso de esta técnica de **mutagénesis dirigida** se resume en la figura 10-34. Mediante el cambio de aminoácidos seleccionados de este modo, es posible determinar qué partes de la cadena polipeptídica son críticas para procesos fundamentales como el plegamiento de la proteína, las interacciones ligando-proteína y la catálisis enzimática. Además, la mutagénesis dirigida permite determinar los papeles biológicos de cada parte de una determinada proteína.

Los animales pueden alterarse genéticamente

Para estudiar la función de un gen mutado in vitro, idealmente el objetivo debería ser la sustitución del gen normal por el alterado de modo que la función de una proteína mutante se pueda analizar ante la ausencia de la proteína normal. Esta **sustitución génica** puede realizarse sencillamente mediante recombinación homóloga entre el DNA mutante introducido y el DNA cromosómico (Fig. 10-35A). Con la misma estrategia, el gen puede ser suprimido por completo y crear un **gen inactivado** (*knockout*) (Fig. 10-35B). Una tercera posibilidad es que el gen mutante se agregue al genoma sin que ocurra ninguna alteración del gen normal en el proceso (Fig. 10-35C). Los organismos en los que se introdujo un nuevo gen, o aquellos cuyos genomas fueron modificados de otros modos utilizando técnicas de recombinación del DNA, se conocen como **organismos transgénicos** u *organismos modificados genéticamente* (OMG).

En los organismos que se reproducen en forma sexual estas alteraciones suelen generarse en la línea germinal. Estos animales transgénicos podrán transmitir el gen alterado hacia al menos alguno de su progenie como una parte permanente de su genoma (Fig. 10-36 ver 9-1). Desde el punto de vista técnico, hasta la línea germinal humana puede modificarse de esta forma, aunque esto es ilegal por varias razones éticas. Sin embargo, se están explorando técnicas similares para corregir defectos en las células somáticas humanas. Estas células, como las que forman el hígado, el páncreas, el hueso o la piel, se reproducen dentro de un ser humano pero no se transmiten a su progenie (Fig. 9-3). Algunas enfermedades genéticas podrían aliviarse o curarse mediante la introducción de células somáticas corregidas genéticamente en el tejido más afectado por la enfermedad; sin embargo, las modificaciones no serán transmitidas a los descendientes.

Las técnicas transgénicas permiten la producción de organismos complejos que contienen genes alterados o que carecen por completo de ciertos genes. Por ejemplo, actualmente se han obtenido muchos *ratones con desactivación génica* (*knockout*): cepas de ratones que tienen un gen en particular inactivado de manera permanente. De la observación del efecto de eliminar o mutar un gen dado, a menudo; se puede inferir su función normal (Fig. 10-37).

PREGUNTA 10-5

Una mutación lograda mediante ingeniería genética in vitro como se muestra en la figura 10-34 introduce un error en el DNA. ¿Esperaría que este error fuera reconocido y reparado por las enzimas que reparan errores de apareamiento del DNA (Fig. 6-22) cuando el plásmido que contiene el error de apareamiento es introducido en las células? ¿Podría esto causar un problema en el procedimiento de mutagénesis dirigida? Explique su respuesta.

La interferencia por RNA proporciona una manera simple de probar la función génica

Desactivar un gen en un organismo y estudiar las consecuencias es, tal vez, el enfoque más acertado para comprender la función de un gen, si bien hay una manera más rápida y sencilla de inactivar genes en las células y los organismos denominado **interferencia por RNA** (RNAi). Este método se basa en un mecanismo natural utilizado en una amplia variedad de plantas y animales para regular genes seleccionados y destruir moléculas de RNA "extraño" (véanse Figs. 8-26 y 8-27). La técnica se basa en la introducción en una célula u organismo de una

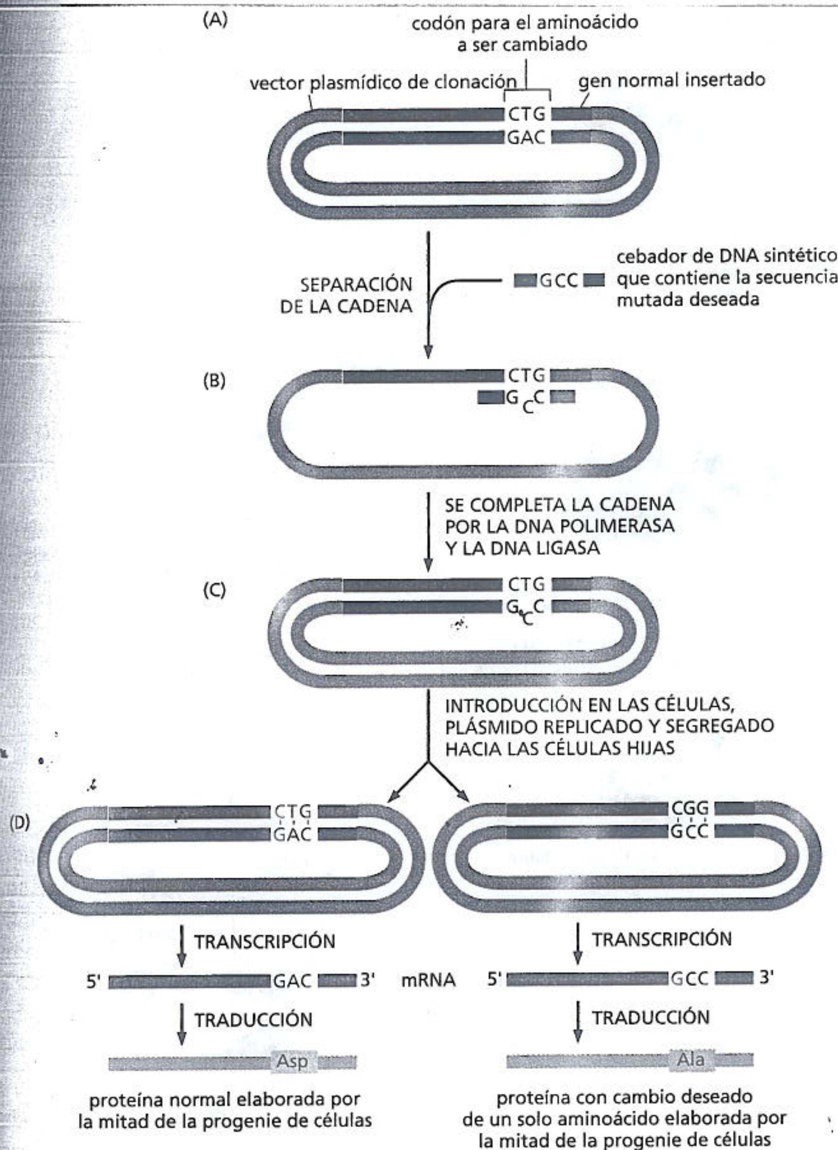


Figura 10-34. Las moléculas de DNA sintéticas se utilizan para modificar la región de un gen que codifica proteína mediante mutagénesis dirigida. (A). Un plásmido recombinante que contiene inserto un gen se separa en sus dos cadenas de DNA. Un cebador de DNA sintético que contiene un solo nucleótido alterado en un punto predeterminado se agrega a la cadena simple de DNA en condiciones que permiten una hibridación imperfecta del DNA. (B). El cebador se hibrida con el DNA y se deja que quede un solo nucleótido desapareado. (C). El plásmido recombinante se transforma en doble cadena mediante la síntesis in vitro de DNA comenzando a partir del cebador y el cierre final de la DNA ligasa. (D). La doble cadena de DNA se introduce en una célula, en la que se replica. La replicación de una cadena produce un molécula normal de DNA, pero la replicación de otra (la cadena que contiene el cebador) produce una molécula de DNA que es portadora de la mutación deseada. Sólo la mitad de las células de la progenie terminarán con un plásmido que contiene el gen mutante deseado; sin embargo, una progenie celular que contiene el gen mutado puede identificarse, separarse de las otras células y cultivarse para producir una población pura de células, las que son portadoras del gen mutado. Con las moléculas de DNA sintéticas que posea la secuencia apropiada, es posible producir más de una sustitución de aminoácido por vez, o uno o más aminoácidos pueden agregarse o eliminarse.

molécula de RNA de doble cadena cuya secuencia de nucleótidos se corresponda con la del gen por ser inactivado. Esta molécula de RNA de doble cadena es reconocida como extraña y dirige su degradación como la del mRNA cuya secuencia se correspondía. Fragmentos pequeños de estos RNA degradados son posteriormente utilizados por la célula para producir más RNA de doble cadena que dirige la eliminación continua del mRNA diana. Debido a que estos fragmentos cortos de RNA pueden transmitirse hacia las células de la progenie, la RNAi puede generar cambios heredables en la expresión génica.

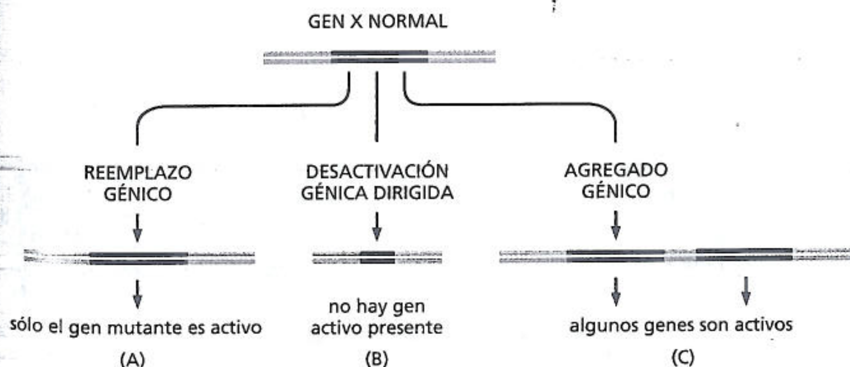


Figura 10-35. Se pueden realizar varios tipos de modificaciones génicas en organismos obtenidos mediante ingeniería genética. (A). El gen normal puede reemplazarse por completo por una copia mutante del gen, un proceso denominado sustitución génica. Esto proporcionará información sobre la actividad del gen mutante sin interferencia del gen normal y, de este modo, se podrá determinar el efecto de las mutaciones sutiles y pequeñas. (B). El gen normal puede inactivarse por completo, por ejemplo, al generar una gran deleción; se dice que el gen experimentó una desactivación génica (*knockout*). Este tipo de alteración es muy utilizada para obtener información sobre la posible función del gen normal en el animal en su totalidad. (C). Un gen mutante puede simplemente agregarse al genoma. Esta alteración proporciona información útil cuando el gen mutante introducido sobrepasa la función del gen normal.

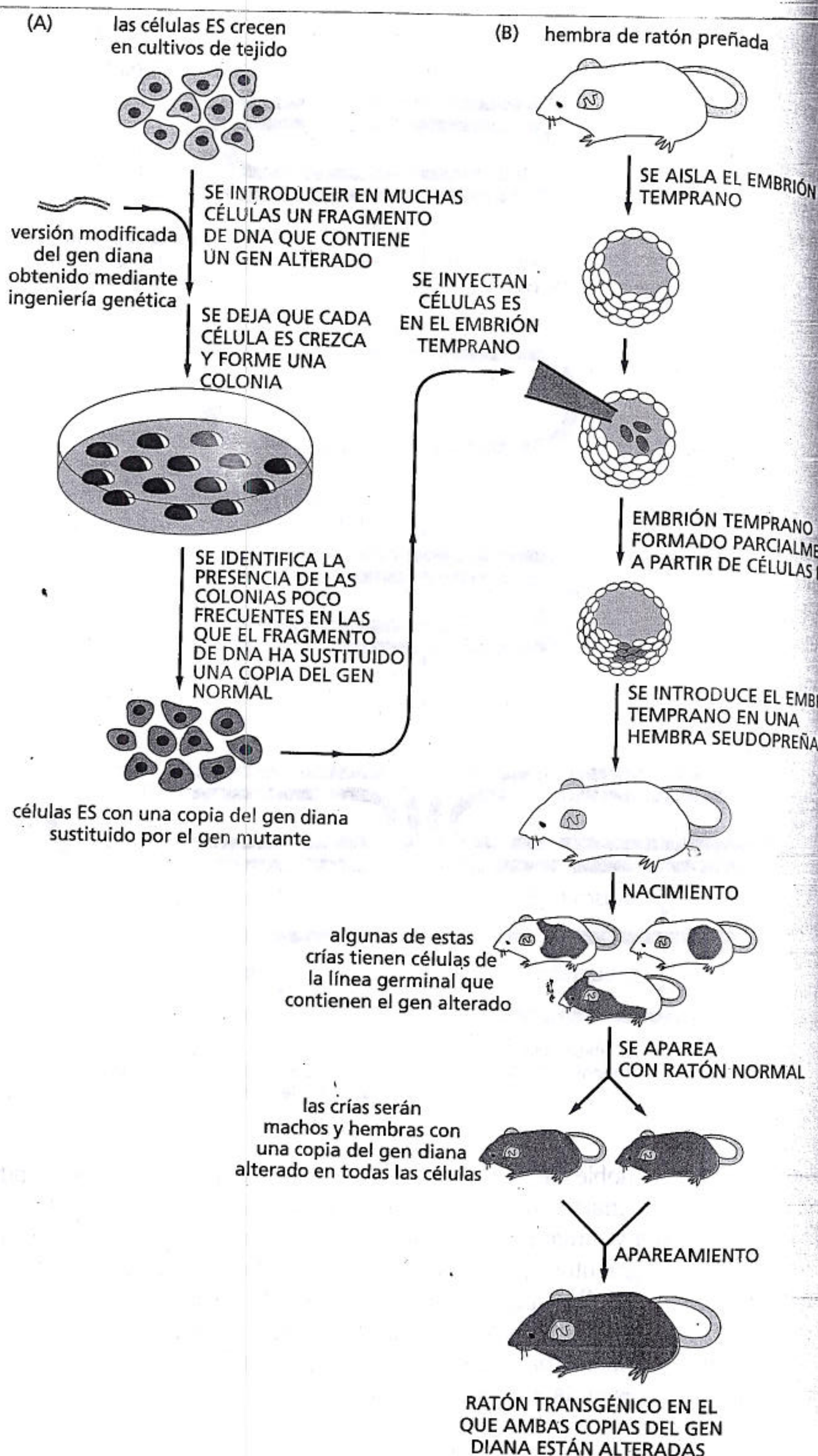


Figura 10-36. La sustitución génica en ratones utiliza células madre embrionarias (ES). En la primera etapa (A), se introduce una versión alterada del gen en las células ES cultivadas. En muy pocas células ES los genes normales correspondientes serán sustituidos por el gen alterado mediante recombinación homóloga. Aunque el procedimiento es laborioso, estas células poco frecuentes pueden identificarse y ser cultivadas para producir muchos descendientes, cada uno será portador de un gen modificado en el lugar de uno de sus dos genes normales. En la siguiente etapa del procedimiento (B), estas células ES alteradas se inyectan en un embrión muy temprano de ratón; las células se incorporan en el embrión en crecimiento, y un ratón producido por este embrión contendrá algunas células somáticas (indicadas en *anaranjado*) que llevarán el gen alterado. Algunos de estos ratones también contendrán células de la línea germinal que tiene el gen alterado. Cuando se los cruce con un ratón normal, algunas de las progenies de estos ratones contendrán el gen alterado en todas sus células. Si a su vez dos de estos ratones se cruzan, algunas de las progenies contendrán dos genes alterados (una sobre cada cromosoma) en todas sus células. Si la alteración génica original inactiva por completo la función del gen, estos ratones se conocen como ratones con desactivación génica o "*knockout*". Es frecuente que los ratones que pierden genes que funcionan durante el desarrollo mueran antes de llegar a la edad adulta.

La RNAi se emplea para inactivar genes en las líneas de cultivos celulares de mamíferos. Este método también ha sido muy utilizado para estudiar la función génica en el nematodo, *C. elegans*. Cuando se trabaja con gusanos, la introducción de RNA de doble cadena es bastante simple: el RNA puede inyectarse directamente en el intestino del animal, o el gusano puede alimentarse con *E. coli* modificada por ingeniería genética para producir RNA (Fig. 10-38). El RNA se distribuye en todo el cuerpo del gusano, donde inhibe la expresión del gen diana en diferentes tipos de tejido. Debido a que la totalidad del genoma de *C. elegans* se ha secuenciado, la RNAi se está utilizando para ayudar en la asignación de funciones al complemento total de los genes del gusano.

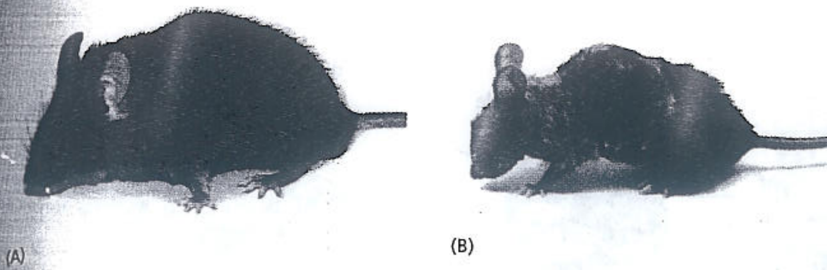


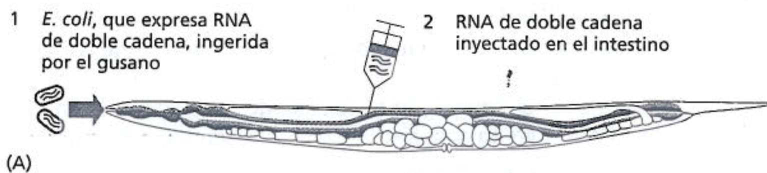
Figura 10-37. Los ratones transgénicos con una DNA helicasa mutante presentan envejecimiento prematuro. La helicasa, codificada por el gen *Xpd*, participa en la transcripción y la reparación del DNA. En comparación con un ratón de tipo silvestre (A), un ratón transgénico que expresa una versión defectuosa de *Xpd* (B) presenta muchos de los síntomas de envejecimiento prematuro, que incluyen osteoporosis, aspecto demacrado, encanecimiento temprano, esterilidad y vida útil reducida. La mutación en *Xpd* utilizada aquí deteriora la actividad de la helicasa e imita una mutación que en seres humanos genera tricotiodistrofia, un trastorno que se caracteriza por pelo quebradizo, anomalías esqueléticas y expectativa de vida muy corta. Estos resultados respaldan la hipótesis que sostiene que una acumulación del daño del DNA contribuye al proceso de envejecimiento en seres humanos y en ratones. (De J. de Boer et al., *Science* 296:1276-1279, 2002. Con permiso de AAAS.)

Las plantas transgénicas son importantes para la biología celular y la agricultura

Aunque tenemos la tendencia de pensar la investigación del DNA recombinante en términos de biología animal, estas técnicas también han tenido un profundo impacto sobre el estudio de las plantas. En realidad, ciertas características de las plantas las torna susceptibles a los métodos de DNA recombinante.

Cuando una parte de un tejido vegetal se cultiva en un medio estéril que contiene nutrientes y reguladores del crecimiento apropiados, muchas de las células son estimuladas a proliferar indefinidamente de una forma desorganizada que da por resultado una masa de células relativamente indiferenciadas denominada *callo*. Si los nutrientes y los reguladores del crecimiento son manipulados con cuidado, se puede inducir la formación de un brote dentro del callo y, en muchas especies, se puede generar una planta nueva entera a partir de estos brotes. En algunas plantas –incluidas el tabaco, la petunia, la zanahoria, la patata (papa) y *Arabidopsis*– se puede hacer que crezca una única célula a partir de este callo a partir de la que se puede regenerar una planta entera (véase Fig. 8-2B). Así como los ratones mutantes pueden derivar de manipulaciones genéticas de las células madre embrionarias en cultivo, las plantas transgénicas pueden crearse a partir de células vegetales transfectadas con DNA en cultivo (**Fig. 10-39**).

La capacidad para producir plantas transgénicas aceleró mucho el progreso en varias áreas de la biología celular vegetal, que ha tenido una participación importante, por ejemplo, en el aislamiento de receptores para los reguladores del crecimiento y en el análisis de los mecanismos de morfogénesis y de expresión génica en plantas. Estas técnicas también han abierto nuevas posibilidades en la agricultura que podrían beneficiar al granjero y al consumidor, ya que han permitido modificar la proporción de lípidos, almidón y proteínas en las semillas, otorgar



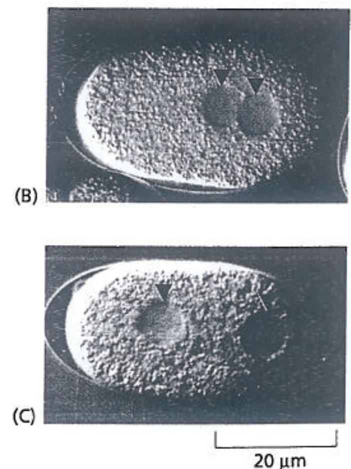


Figura 10-38. La función génica puede probarse mediante interferencia por RNA. (A) El RNA de doble cadena (dsRNA) puede introducirse en *C. elegans* mediante 1) alimentación de los parásitos con *E. coli* que expresa el dsRNA o 2) inyección directa en el intestino del animal. (B) En un embrión del gusano de tipo silvestre, los pronúcleos del óvulo y del espermatozoide se unen en la mitad posterior del embrión enseguida después de la fecundación, (C) En un embrión en el que se ha inactivado un gen determinado por RNAi, los pronúcleos fallan en migrar. Este experimento reveló una función importante, antes desconocida, de este gen en el desarrollo embrionario. (B y C, de P. Gönczy et al., *Nature* 408:331-336, 2000. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

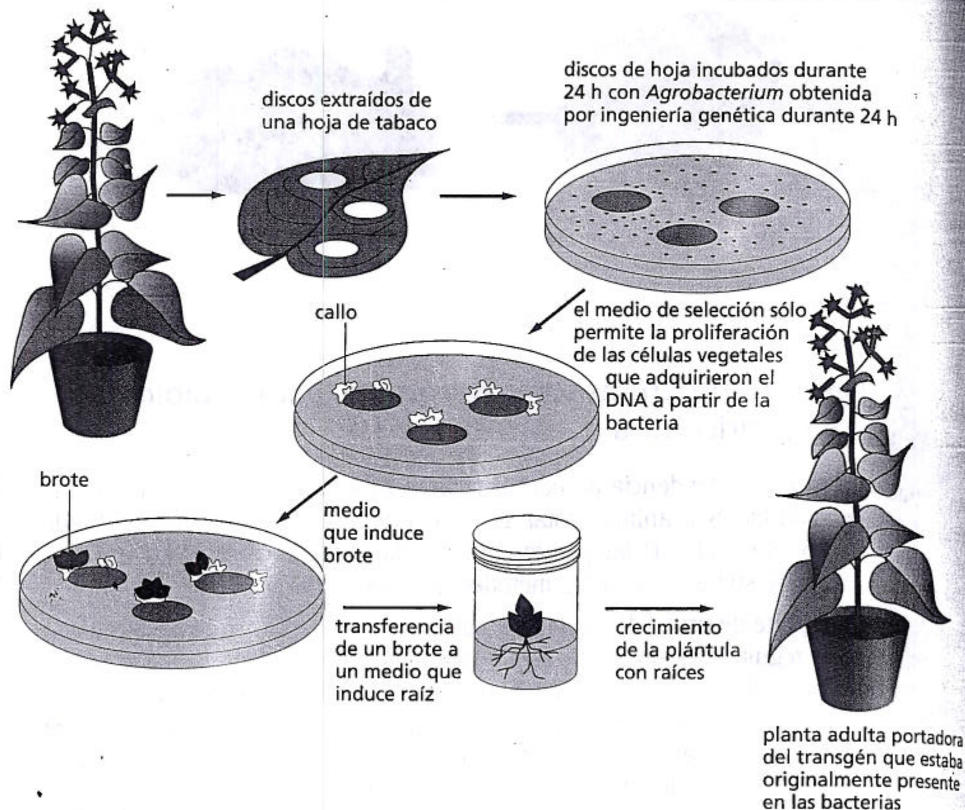


Figura 10-39. Es factible producir plantas transgénicas mediante las técnicas de DNA recombinante. Se corta un disco de una hoja y se lo incuba en un cultivo de *Agrobacterium* en el que las células bacterianas portan un plásmido recombinante con un marcador seleccionable y un gen deseado obtenido por ingeniería genética. Las células heridas en el borde del disco liberan sustancias que atraen a las bacterias y conducen a que ellas inyecten DNA en estas células. Sólo las células vegetales que absorben el DNA apropiado y expresan el marcador seleccionable sobreviven, proliferan y forman un callo. La manipulación de los factores de crecimiento aportados al callo induce a éste a formar brotes que con posterioridad forman raíz y crecen hacia una planta adulta que porta el gen obtenido por ingeniería genética.

resistencia a las plantas contra pestes y virus, y crear plantas modificadas que toleran ambientes extremos como salitres o suelos anegados. Una variedad de arroz se ha manipulado mediante ingeniería genética para producir β-caroteno, el precursor de la vitamina A. Este "arroz de oro" –así llamado debido a su color amarillo pálido– puede ayudar a aliviar deficiencias graves de vitamina A, que cada año causan ceguera en cientos de miles de niños en los países no indusctrializados.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La tecnología de DNA recombinante revolucionó el estudio de la célula al permitir que los investigadores escojan a voluntad cualquier gen de los miles que hay en una célula y determinar su estructura molecular exacta.
- Un elemento fundamental en esta tecnología es la capacidad de cortar una molécula de DNA de gran tamaño en un grupo de fragmentos de DNA específico y reproducible mediante el empleo de nucleasas de restricción. Cada una corta la doble hélice de DNA sólo en una secuencia de nucleótidos determinada.
- Los fragmentos de DNA pueden separarse entre sí sobre la base de su tamaño por electroforesis en gel.
- La hibridación de ácidos nucleicos puede detectar cualquier secuencia de DNA o RNA en una mezcla de fragmentos de ácidos nucleicos. Esta técnica se basa en el hecho de que una sola cadena de DNA o RNA formará una doble hélice sólo con otra cadena de ácido nucleico de la secuencia de nucleótidos complementaria.
- Los DNA de cadena simple de secuencia conocida y marcados con compuestos fluorescentes o radioisótopos se utilizan como sondas en las reacciones de hibridación.

- Es posible elaborar cadenas de DNA cortas de cualquier secuencia mediante síntesis química en el laboratorio.
- Las técnicas de clonación de DNA permiten que una secuencia de DNA se seleccione a partir de millones de otras secuencias y se produzca en forma pura en cantidades ilimitadas.
- Los fragmentos de DNA pueden unirse entre sí in vitro por medio de la DNA ligasa para formar moléculas de DNA recombinante no halladas en la naturaleza.
- Los fragmentos de DNA pueden ser mantenidos y amplificados mediante su inserción en una molécula de DNA capaz de replicarse, p. ej. un plásmido. Esta molécula de DNA recombinante es introducida en una célula hospedadora de rápida división, en general una bacteria, de modo que el DNA se replica en cada división celular.
- Una colección de fragmentos clonados de DNA cromosómico que representa el genoma completo de un organismo se conoce como genoteca de DNA genómico. La genoteca se mantiene como clones de bacterias y cada clon transporta un fragmento de DNA diferente.
- Las genotecas de cDNA contienen copias de DNA clonado del mRNA total de un tipo celular o tejido en particular. A diferencia de los clones de DNA genómico, los cDNA clonados contienen sobre todo secuencias que codifican proteínas; ellas carecen de intrones, secuencias de DNA regulador y promotores. Por esto su empleo es el más apropiado cuando el gen clonado se expresa para producir una proteína.
- La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una forma poderosa de amplificación del DNA que se realiza in vitro con el empleo de una DNA polimerasa purificada. La PCR requiere conocer de antemano la secuencia a ser amplificada, ya que deben sintetizarse dos oligonucleótidos cebadores sintéticos que abarquen la porción de DNA que se va a replicar.
- Históricamente, los genes se clonaron por técnicas de hibridación para identificar el plásmido que posee la secuencia deseada proveniente de una genoteca de DNA. En la actualidad, la mayoría de los genes se clona mediante PCR para amplificarlos en gran medida y, por consiguiente, obtener una secuencia específica a partir de una muestra de DNA o mRNA.
- En la actualidad se dispone de técnicas para determinar en forma rápida la secuencia de nucleótidos de cualquier fragmento de DNA.
- Se han determinado las secuencias completas de nucleótidos de los genomas de miles de organismos diferentes, como bacterias, *Archaea,* levaduras, insectos, peces, vegetales y mamíferos.
- Las bacterias, las levaduras y las células de mamíferos pueden manipularse por ingeniería genética para sintetizar una proteína particular a partir de cualquier organismo en grandes cantidades, lo que posibilita el estudio de proteínas que de otro modo son difíciles de aislar.
- Mediante las técnicas de DNA recombinante, una proteína puede unirse a un marcador molecular, como la GFP, que permite el rastreo de sus movimientos dentro de la célula. En el caso de la GFP, la proteína puede observarse a lo largo del tiempo en los organismos vivos.
- La hibridación in situ del ácido nucleico puede utilizarse para detectar la ubicación precisa de genes en los cromosomas o los RNA en células y tejidos.
- Mediante la presentación de una plataforma para realizar una gran cantidad de reacciones de hibridación simultáneas, las micromatrices de DNA pueden utilizarse para estudiar la expresión de miles de genes al mismo tiempo.
- Los genes clonados pueden insertarse de manera permanente en el genoma de una célula o de un organismo mediante tecnología de DNA recombinante. El DNA clonado puede alterarse in vitro para crear genes mutantes que luego se reinsertan en una célula u organismo para estudiar su función génica.
- Una estrategia sencilla para estudiar la función de un gen es eliminarlo del genoma del organismo y, entonces, estudiar el efecto de esta inactivación en el comportamiento o el aspecto del organismo.
- La expresión de genes particulares puede estar inhibida en células u organismos mediante la técnica de interferencia por RNA (RNAi), que evita que un mRNA sea traducido en proteína.

PALABRAS CLAVE

cDNA
clonación de DNA
desactivación génica
DNA ligasa
DNA recombinante
fenotipo
gen indicador
genoteca de DNA
genotipo
hibridación
hibridación in situ
interferencia por RNA (RNAi)
método didesoxi de secuenciación de DNA
micromatriz de DNA
mutagénesis dirigida
nucleasa de restricción
organismo transgénico
plásmido
proteína fluorescente verde (GFP)
reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
sustitución génica
tecnología de DNA recombinante
transformación

PREGUNTAS

PREGUNTA 10-6

¿Cuáles son las consecuencias de una reacción de secuenciación de DNA si se aumentó la relación de didesoxirribonucleósidos trifosfatos a desoxirribonucleósidos trifosfatos? ¿Qué sucede si esta relación se disminuye?

PREGUNTA 10-7

Casi todas las células de un individuo animal contienen genomas idénticos. En un experimento se fijó un tejido compuesto de varios tipos celulares diferentes y se lo sometió a hibridación in situ con una sonda de DNA a un gen determinado. Para nuestra sorpresa, la señal de hibridación es mucho más fuerte en algunas células que en otras, ¿cómo podría explicar este resultado?

PREGUNTA 10-8

Después de décadas de trabajo, el doctor Ricky M. aisló una pequeña cantidad de atractasa, una enzima que produce una poderosa feromona humana, a partir de muestras de las celebridades de Hollywood. Para producir atractasa para su uso personal obtuvo un clon genómico completo de un gen de atractasa, conectado a un promotor bacteriano fuerte sobre un plásmido de expresión e introdujo el plásmido en las células de *E. coli*. El científico quedó desolado al hallar que las células no producían atractasa. ¿Cuál es la explicación más probable de esta falla?

PREGUNTA 10-9

¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta? Explique sus respuestas.

A. Las nucleasas de restricción cortan el DNA en sitios específicos que siempre se localizan entre genes.

B. El DNA migra hacia el electrodo positivo durante la electroforesis.

C. Los clones aislados a partir de las genotecas de cDNA contienen secuencias promotoras.

D. La PCR utiliza una DNA polimerasa termoestable debido a que para cada etapa de amplificación la doble cadena de DNA debe desnaturalizarse por calor.

E. La digestión de DNA genómico con AluI, una enzima de restricción que reconoce una secuencia de cuatro nucleótidos, produce fragmentos, todos exactamente de 256 nucleótidos de longitud.

F. Para construir una genoteca de cDNA se deben utilizar una DNA polimerasa y una transcriptasa inversa.

G. La huella génica de DNA por PCR se basa en el hecho de que individuos diferentes tienen distintos números de repeticiones en las regiones STR en sus genomas.

H. Es posible para una región codificante de un gen estar presente en una genoteca genómica preparada a partir de un tejido particular, pero no estar representada en una genoteca de cDNA preparada a partir del mismo tejido.

PREGUNTA 10-10

A. ¿Cuál es la secuencia de DNA que se utilizó en la reacción de secuenciación que se muestra en la figura P10-10. Las cuatro filas muestran los productos de las reacciones de secuenciación que contenían ddG (fila 1), ddA (fila 2), ddT (fila 3) y ddC (fila 4). Los números a la derecha de la autorradiografía representan las posiciones de los fragmentos de DNA de 50 y 116 nucleótidos.

B. Este DNA deriva del medio de un clon de cDNA de una proteína de mamífero. Si se usa la tabla del código genético (véase Fig. 7-24), ¿puede determinar la secuencia de aminoácidos de esta porción de la proteína?



Figura P10-10.

PREGUNTA 10-11

A. ¿Cuántos fragmentos de DNA diferentes obtendría si se escinde el DNA

genómico humano con HaeIII? (Recuerde que hay 3×10^9 pares de nucleótidos por genoma haploide). ¿Cuántos fragmentos obtendría con EcoRI o con NotI?

B. Las genotecas de DNA genómico humanas suelen elaborarse a partir de fragmentos obtenidos mediante la escisión del DNA humano con HaeIII de una forma que el DNA sólo es digerido en parte, esto es, no todos los sitios HaeIII posibles se han escindido. ¿Cuál es una posible razón para hacer esto?

PREGUNTA 10-12

Una molécula de DNA de doble cadena fue cortada con tres nucleasas de restricción diferentes y los productos resultantes se separaron mediante electroforesis en gel (Fig. P10-12). Los fragmentos de DNA de tamaños conocidos fueron separados por electroforesis sobre el mismo gel para usarlos como marcadores de tamaño. El tamaño de los marcadores de DNA se mide en pares de kilobases (kb), donde 1 kb = una longitud de 1.000 pares de nucleótidos. Utilizando los marcadores de tamaño como una guía, estime el tamaño de cada fragmento de restricción obtenido. A partir de esta información deduzca un mapa de la molécula de DNA original que indique las posiciones relativas de todos los sitios de escisión de la enzima de restricción.

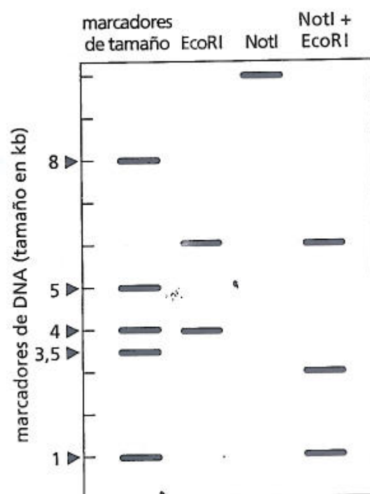


Figura P10-12.

PREGUNTA 10-13

Usted aisló una pequeña cantidad de una proteína poco frecuente, escindió la proteína en fragmentos mediante proteasas, separó algunos de los fragmentos por cromatografía y determinó su secuencia de aminoácidos. Lamentablemente, como sucede con frecuencia, pequeñas cantidades de la proteína están disponibles para comenzar. Usted obtuvo sólo tres fragmentos cortos de la secuencia de aminoácido de la proteína.

1. Trp-Met-His-His-Lys
2. Leu-Ser-Arg-Leu-Arg
3. Tyr-Phe-Gly-Met-Gln

A. Mediante el código genético (véase Fig. 7-24), diseñe un grupo de sondas específicas que podrían utilizarse para detectar el gen en una genoteca de cDNA por hibridación. ¿Cuál de los tres grupos de sondas de oligonucleótidos cebadores sería preferible utilizar primero? Explique su respuesta.

B. Usted también logró determinar que la Gln de su péptido número 3 es el aminoácido C-terminal (es decir, el final) de su proteína. ¿Cómo haría usted para diseñar oligonucleótidos cebadores que pudieran emplearse para amplificar una parte del gen desde una genoteca de cDNA por PCR?

C. Suponga que la amplificación por PCR en (B) produce un DNA que tiene precisamente una longitud de 300 nucleótidos. Para determinar la secuencia nucleotídica de este DNA usted encuentra la secuencia CTATCACGCTTTAGG aproximadamente en su parte media. ¿Qué conclusión puede extraer a partir de estas observaciones?

PREGUNTA 10-14

Suponga que una reacción de secuenciación del DNA sucede como se muestra en la figura 10-21, salvo que los cuatro didesoxirribonucleósidos trifosfato diferentes se modifican de modo que cada uno contiene un colorante unido en forma covalente de distinto color (que no interfiere con su incorporación en la cadena de DNA). ¿Cuáles serán los productos si usted agrega una mezcla de los cuatro didesoxirribonucleósidos trifosfato marcados junto con los cuarto desoxirribonucleósidos trifosfato sin marcar en una sola secuencia de reacción? ¿Cómo se verían los resultados si se aplicara la electroforesis en estos productos en una única fila del gel?

PREGUNTA 10-15

Los clones de DNA genómico se utilizan, con frecuencia, para "desplazarse" a lo largo del cromosoma. En esta aproximación, un DNA clonado se utiliza para aislar otros clones que contienen secuencias de DNA superpuestas (Fig. P10-15). Con este método es posible construir un fragmento de la secuencia de DNA y de esta forma identificar nuevos genes cerca de la proximidad de un gen previamente clonado.

A. ¿Sería más rápido en este método utilizar clones de cDNA, debido a que no contienen secuencia de intrones?

B. ¿Cuáles serían las consecuencias si usted encontrara una secuencia de DNA repetitiva, como la del transposón L1 (véase Fig. 6-35), que se encuentra en muchas copias y en muchos lugares diferentes del genoma?

PREGUNTA 10-16

Ha tenido lugar una situación caótica anormal en la sala de partos de su hospital local. Cuatro grupos de gemelos varones, nacidos una hora uno después del otro, se mezclaron inadvertidamente durante la agitación ocasionada por este rarísimo acontecimiento. Lo llamaron a usted para poner las cosas en orden. Como primer paso, usted quiere hacer corresponder a cada bebé con su gemelo. Para este fin analiza una pequeña muestra de sangre de cada niño utilizando una sonda de hibridación que detecta repeticiones cortas en tándem (*short tandem repeats;* STR) ubicadas en regiones ampliamente dispersas del genoma. Los resultados se muestran en la figura P10-16.

A. ¿Cuáles de los niños son hermanos? ¿Cuáles son gemelos idénticos?

B. ¿Cómo hará para encontrar a los padres correctos de un par de hermanos?

PREGUNTA 10-17

Uno de los primeros organismos que se modificó genéticamente utilizando tecnología de DNA recombinante fue una bacteria que suele vivir sobre la superficie de las plantas de fresa. Esta bacteria produce una proteína, denominada proteína hielo, que causa la formación eficiente de cristales de hielo alrededor de ella cuando la temperatura desciende justo por debajo de la congelación. De esta

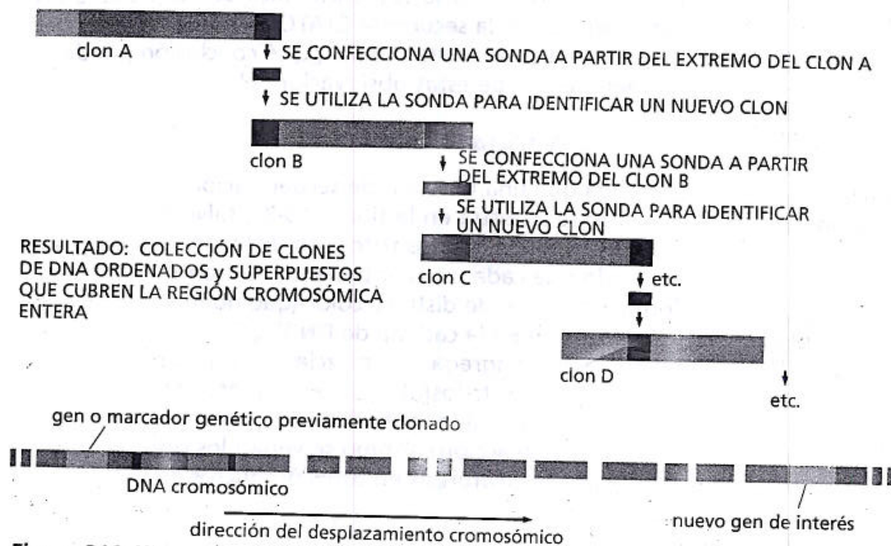


Figura P10-15.

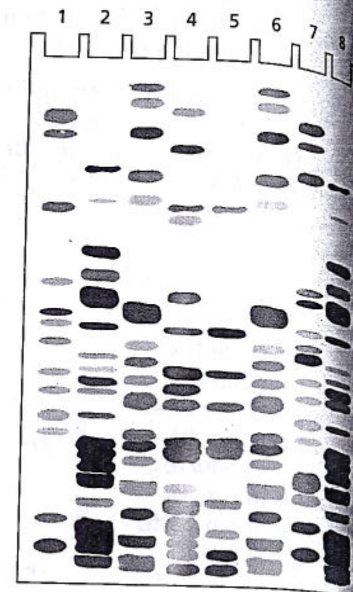


Figura P10-16.

forma, las fresas que hospedan esta bacteria son particularmente susceptibles al daño por frío debido a que sus células son destruidas por los cristales de hielo. Como consecuencia, los cultivadores de fresas tienen un considerable interés en evitar la cristalización.

Se construyó una versión de ingeniería genética de esta bacteria en la que se produjo la desactivación del gen de la proteína hielo. Las bacterias mutantes se introdujeron luego en grandes cantidades en los campos de fresas, donde desplazaron a las bacterias normales mediante competición por su nicho ecológico. Este enfoque ha sido exitoso: las fresas que tienen la bacteria mutante muestran una susceptibilidad más reducida al daño por hielo.

Sin embargo, en el momento en el que se realizaron por primera vez, los ensayos iniciales a campo abierto desencadenaron un intenso debate debido a que representaban la primera liberación hacia el ambiente de un organismo que había sido modificado por ingeniería genética utilizando las técnicas de DNA recombinante. En efecto, todos los experimentos preliminares se habían realizado con extrema precaución y en estricta contención (Fig. P10-17).

¿Piensa que las bacterias que carecen de la proteína hielo podrían aislarse sin el uso de la moderna tecnología de DNA? ¿Existe la probabilidad de que estas mutaciones ya hayan ocurrido en la naturaleza? ¿Sería de menor preocupación el uso de una cepa bacteriana mutante aislada de la naturaleza? ¿Debería estar preocupado sobre los riesgos planteados debidos a la aplicación de las técnicas de DNA recombinante en agricultura y medicina? Explique sus respuestas.



(Cortesía de John Bedbrook y de DNA Technology Corporation)

Figura P10-17.

CAPÍTULO **ONCE**

11

Estructura de la membrana

Una célula viva consiste en un sistema de moléculas que se reproduce en forma autónoma en el interior de un recipiente. El recipiente es la **membrana plasmática**: una película lipídica tan delgada y transparente que no puede visualizarse directamente con el microscopio óptico. Todas las células de la Tierra contienen una membrana que separa y protege sus componentes químicos del medio externo. Sin membranas no habría células y, por lo tanto, no habría vida.

La estructura de la membrana plasmática es sencilla y se basa en una lámina de moléculas lipídicas de un espesor de alrededor de 5 nm o 50 átomos. No obstante, las propiedades de la membrana plasmática se diferencian de las de una lámina de cualquier otro material de uso frecuente. La membrana plasmática no sólo actúa como una barrera que impide que el contenido de la célula se escape y se mezcle con el medio circundante (Fig. 11-1A). Para que una célula pueda sobrevivir y crecer es necesario que los nutrientes ingresen a través de la membrana plasmática y que los productos de desecho sean expulsados hacia el exterior. Para facilitar este intercambio, la membrana plasmática está atravesada por canales y bombas muy selectivos, es decir, por moléculas proteicas que permiten el ingreso de sustancias específicas y la salida de otros compuestos. Otras proteínas de la membrana plasmática actúan como sensores que posibilitan que las células reciban información de los cambios en su entorno y respondan a ellos (Fig. 11-2). Las propiedades mecánicas de la membrana son igualmente destacables. Cuando una

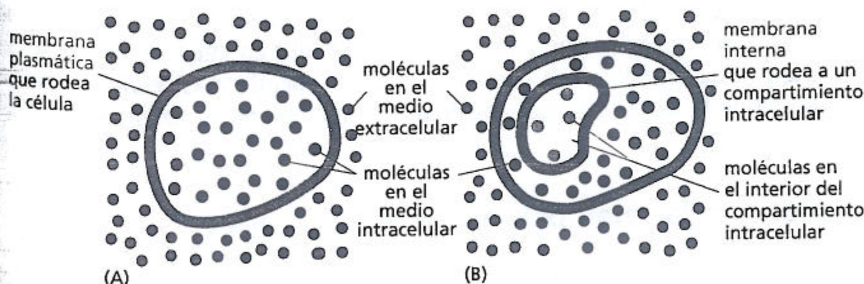


Figura 11-1. Las membranas celulares actúan como barreras selectivas. (A) La membrana plasmática separa una célula del exterior y es la única membrana en la mayoría de las células bacterianas. Esto permite que la composición molecular de una célula difiera de la de su entorno. (B) En las células eucariontes otras membranas internas rodean los orgánulos individuales. En cualquiera de estos casos la membrana impide que las moléculas de un lado se mezclen con las moléculas del otro.

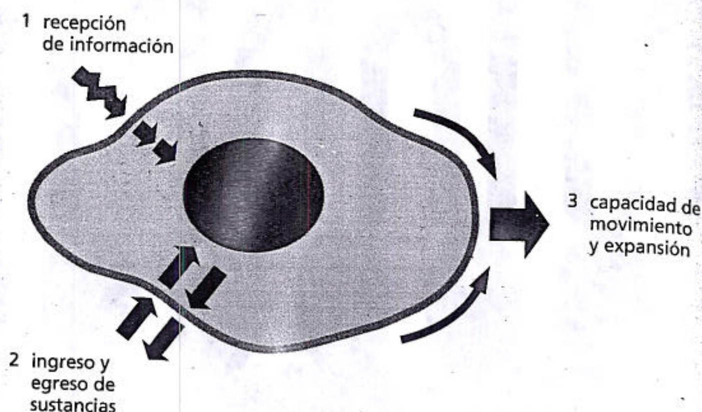


Figura 11-2. La membrana plasmática participa en la comunicación celular, el ingreso y el egreso de moléculas y el crecimiento y la movilidad de las células. (1) Las proteínas receptoras en la membrana plasmática permiten a la célula recibir señales provenientes del entorno; (2) las proteínas de transporte en la membrana permiten el ingreso y el egreso de moléculas pequeñas; (3) la flexibilidad de la membrana y su capacidad de expansión permite el crecimiento y el movimiento de la célula.

célula crece o cambia de forma también se modifica su membrana, que aumenta de superficie mediante el agregado de una mayor cantidad de membrana sin perder su continuidad y posee la capacidad de deformarse sin romperse. En aquellos casos en los que la membrana sufre una perforación, no se colapsa como un globo ni queda rota, sino que se repara con rapidez.

Las bacterias más simples tienen una sola membrana: la membrana plasmática. En cambio, las células eucariontes poseen además numerosas *membranas internas* que encierran los compartimientos intracelulares formando los diversos orgánulos como el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi y las mitocondrias (Fig. 11-3). Estas membranas están formadas sobre los mismos principios que la membrana plasmática y también actúan como barrera muy selectiva entre los espacios que contienen colecciones definidas de moléculas (Fig. 11-1B). Diferencias sutiles en la composición de estas membranas, especialmente en sus proteínas residentes, le confieren a cada orgánulo características distintivas.

Todas las membranas celulares están compuestas por lípidos y proteínas y comparten una estructura fundamental común independientemente de su localización (Fig. 11-4). Los lípidos están organizados en dos láminas íntimamente adosadas que conforman una *bicapa lipídica* (véanse Figs. 11-4B y C). Esta bicapa lipídica proporciona la estructura básica de la membrana y actúa como barrera de permeabilidad para la mayoría de las moléculas hidrosolubles. Las proteínas llevan a cabo la mayoría de las otras funciones de la membrana y confieren características individuales a las distintas membranas

En este capítulo comentaremos la estructura y la organización de los dos componentes principales de las membranas biológicas, es decir, los lípidos y las proteínas. Aunque centraremos nuestra atención principalmente en la membrana plasmática, la mayor parte de los conceptos desarrollados también son válidos para las membranas internas. Las funciones de las membranas celulares, incluidas las que participan en el transporte de moléculas pequeñas y en la generación de energía, se analizarán en capítulos posteriores.

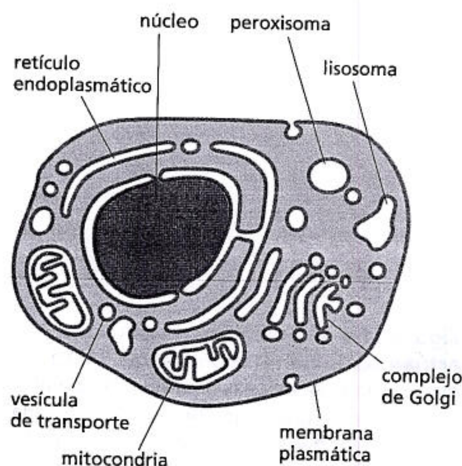


Figura 11-3. Las membranas forman los distintos compartimientos de las células eucariontes. La figura ilustra los orgánulos recubiertos de membrana de una célula animal típica. Obsérvese que el núcleo y las mitocondrias están rodeados por dos membranas.

BICAPA LIPÍDICA

Se estableció, sin lugar a dudas, que la **bicapa lipídica** representa el elemento fundamental de la estructura de la membrana celular y sus propiedades determinan las propiedades generales de todas las membranas celulares. Dado que las células contienen y están rodeadas por soluciones de moléculas en agua, comenzaremos esta sección considerando cómo la estructura de las membranas celulares es una consecuencia de la manera en que los lípidos de membrana se comportan en un entorno acuoso.

Los lípidos de las membranas forman bicapas en el agua

Los lípidos presentes en las membranas celulares combinan dos propiedades muy diferentes en una única molécula: cada lípido posee una *cabeza* hidrófila (que

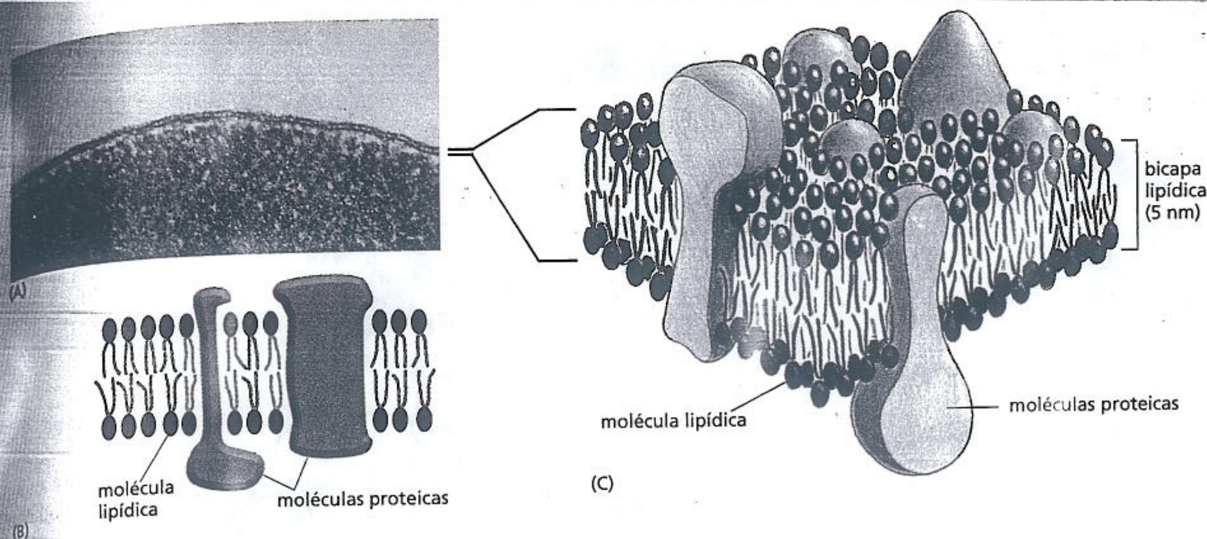


Figura 11-4. Dos perspectivas diferentes de una misma membrana celular. (A). Microfotografía electrónica de la membrana plasmática de un eritrocito humano vista en un corte transversal. (B) y (C). Dibujos esquemáticos que ilustran las vistas bidimensional y tridimensional de una membrana celular (A, cortesía de Daniel S. Friend).

atrae el agua) y una o dos *colas hidrocarbonadas* hidrófobas (que repelen el agua) (Fig. 11-5). Los lípidos más abundantes en las membranas celulares son los **fosfolípidos**, moléculas que se caracterizan por tener una cabeza hidrófila unida al resto del lípido mediante un grupo fosfato. El tipo más frecuente de fosfolípido en la mayor parte de las membranas celulares es la **fosfatidilcolina**, que posee una pequeña molécula de colina unida a un grupo fosfato que actúa como cabeza hidrófila y dos cadenas hidrocarbonadas largas que actúan como colas hidrófobas (Fig. 11-6).

Las moléculas con propiedades hidrófilas e hidrófobas se denominan **anfipáticas**. Esta propiedad química también es compartida por otros tipos de lípidos de membrana, como los *esteroles* (p. ej., el colesterol presente en las membranas celulares animales) y los *glucolípidos*, que poseen azúcares como parte integral de la cabeza hidrófila (Fig. 11-7). Debido a que la membrana tiene elementos hidrófilos e hidrófobos, desempeña una función importante en dirigir el ensamblado de estas moléculas de lípidos en forma de bicapas en un ambiente acuoso.

Como se comenta en el capítulo 2, las moléculas hidrófilas se disuelven con facilidad en el agua debido a que contienen átomos o grupos polares cargados, es decir grupos con una distribución desigual de cargas positivas y negativas; estos átomos cargados pueden formar uniones electrostáticas o uniones hidrogenadas con moléculas de agua, las que también son polares (Fig. 11-8). Por el contrario, las moléculas hidrófobas son insolubles en agua debido a que la totalidad o casi la totalidad de sus átomos están desprovistos de carga y son no polares; en consecuencia, estas moléculas no pueden crear uniones con moléculas de agua. Estos átomos no polares obligan a las moléculas de agua vecinas a reorganizarse y adoptar una estructura similar a la de una jaula alrededor de la molécula hidrófoba (Fig. 11-9). Dado que esta estructura en forma de jaula posee una mayor organización que el agua circundante, su formación requiere energía. Sin embargo, el costo energético puede reducirse si las moléculas hidrófobas se agrupan limitando en la mayor medida posible la cantidad de moléculas de agua con las que deben entrar en contacto. Por lo tanto, las moléculas puramente hidrófobas, como las grasas presentes en las células adiposas animales y los aceites presentes en las semillas vegetales (Fig. 11-10A) se fusionan y forman una gota única de gran tamaño cuando se dispersan en el agua.

Por su parte, las moléculas anfipáticas, como los fosfolípidos (Fig. 11-10B), están sujetas a dos fuerzas opuestas: la cabeza hidrófila es atraída por el agua mientras que la cola hidrófoba rechaza el agua y tiende a agregarse a otras moléculas hidrófobas. Este conflicto se resuelve con la formación de una bicapa lipídica,



Figura 11-5. Una molécula lipídica de membrana típica tiene una cabeza hidrófila y colas hidrófobas.

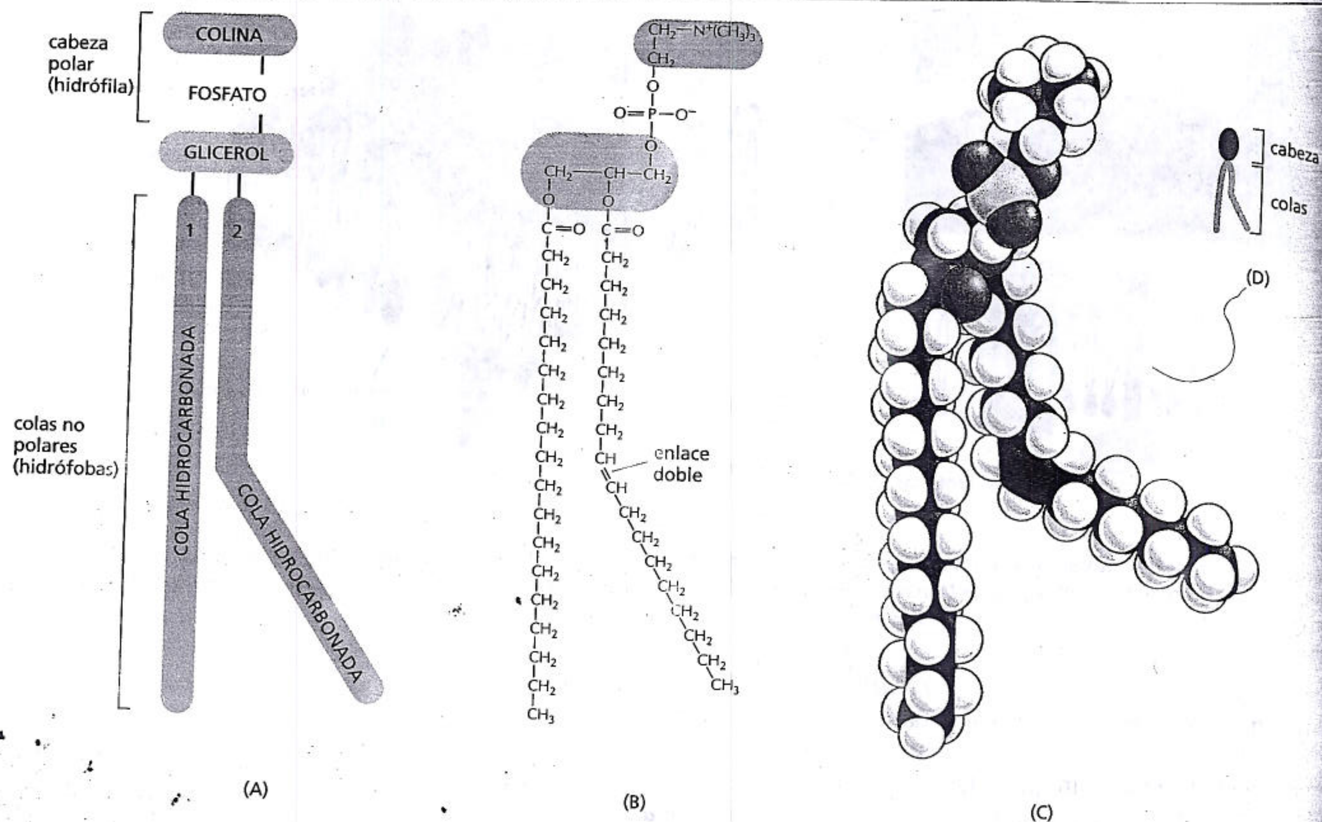


Figura 11-6. La fosfatidilcolina es el fosfolípido más abundante en las membranas celulares. La fosfatidilcolina está representada en forma esquemática (A), como fórmula química (B), como modelo espacial compacto (C) y como símbolo (D). Este fosfolípido está compuesto por cinco partes: la cabeza hidrófila, o colina, está unida por un átomo de fosfato al glicerol, que a su vez está unido a dos cadenas hidrocarbonadas que conforman la cola hidrófoba. Las dos cadenas hidrocarbonadas se generan como ácidos grasos, es decir cadenas hidrocarbonadas con un grupo –COOH en uno de sus extremos, que luego se unen al glicerol mediante sus grupos –COOH. En el sitio donde tiene lugar un doble enlace entre dos átomos de carbono se observa una desviación de una de las cadenas hidrocarbonadas; en el dibujo esta desviación ha sido exagerada para que se destaque con claridad. La primera parte del nombre del fosfolípido; es decir "fosfatidil," se refiere a la fracción de la molécula compuesta por fosfato-glicerol-ácido graso.

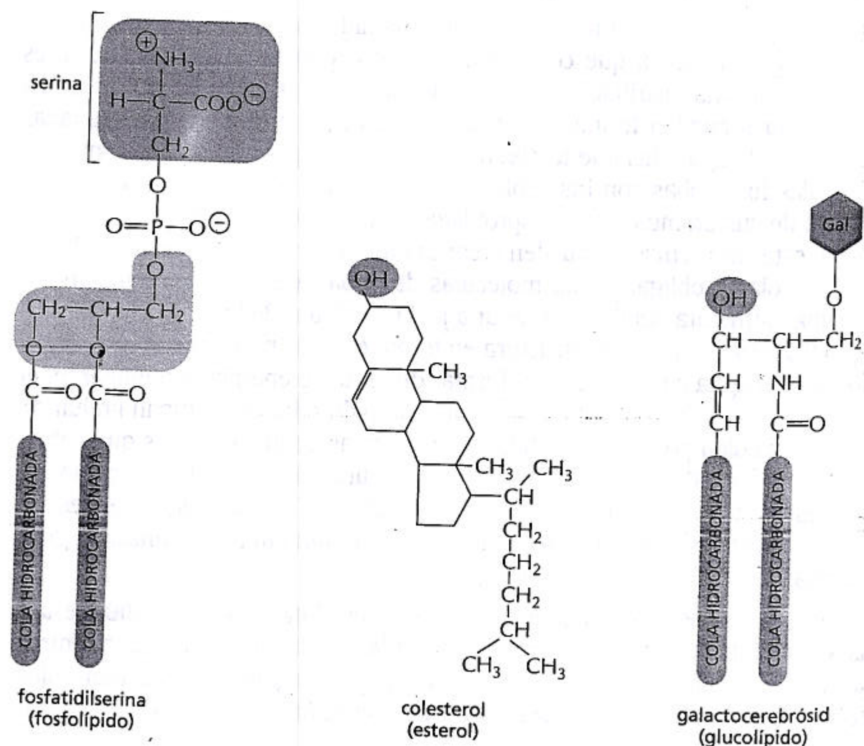


Figura 11-7. Los distintos tipos de lípidos de membrana son todos anfipáticos. Cada uno de los tres tipos de lípidos ilustrados en la figura poseen una cabeza hidrófila y una o dos colas hidrófobas. La cabeza hidrófila (sombreado *azul* y *verde*) es una serina fosfato en la fosfatidilserina, un grupo –OH en el colesterol y un azúcar (galactosa) y un grupo –OH en el galactocerebrósido. Véase también la lámina 2-4, pp. 70-71.

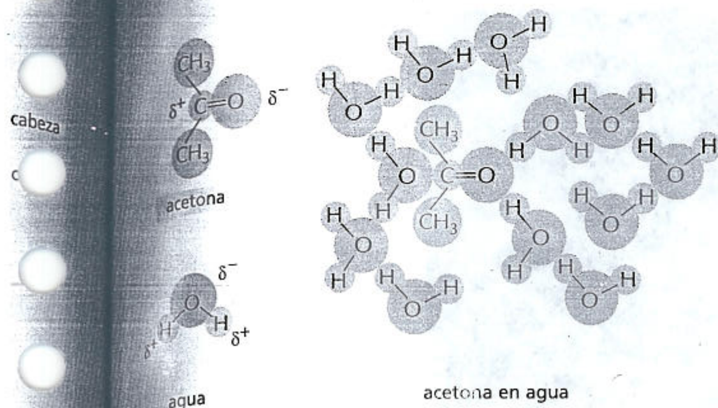


Figura 11-8. Una molécula hidrófila atrae moléculas de agua. Dado que la acetona es un compuesto polar, posee la capacidad de formar interacciones favorables con moléculas de agua, que también son polares. Así, la acetona se disuelve fácilmente en el agua. δ^- indica una carga negativa parcial mientras que δ^+ indica una carga positiva parcial. Los átomos polares se ilustran en colores (*rosa y azul*); los grupos no polares son de color *gris*.

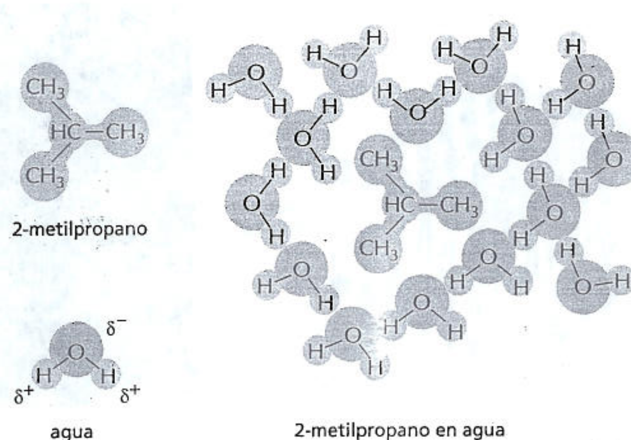


Figura 11-9. Una molécula hidrófoba tiende a evitar el agua. Dado que la molécula de 2-metilpropano es enteramente hidrófoba, no posee la capacidad de formar interacciones favorables con el agua y obliga a las moléculas de agua vecinas a reorganizarse en una estructura en forma de jaula a su alrededor.

solución que satisface a ambas partes y es ventajosa desde la perspectiva energética. Las cabezas hidrófilas quedan expuestas al agua en ambas superficies de la lámina de moléculas mientras que las colas hidrófobas quedan protegidas del agua y se ubican unas junto a las otras en el interior del "sándwich" (Fig. 11-11).

Las mismas fuerzas que determinan que las moléculas anfipáticas formen una bicapa son las que les confieren sus propiedades de autosellado. Cualquier solución de continuidad en la bicapa generará un borde libre expuesto al agua. Dado que este fenómeno es energéticamente desventajoso, las moléculas de la bicapa se reorganizan en forma espontánea eliminando el borde libre. Si el desgarro de la membrana es pequeño, este reordenamiento espontáneo excluirá las moléculas de agua y conducirá a la reparación de la bicapa con el restablecimiento resultante de una capa continua. Si la solución de continuidad es grande, la lámina puede

PREGUNTA 11-1

Se dice que las moléculas de agua "se reorganizan en una estructura en forma de jaula" alrededor de compuestos hidrófobos (véase, por ejemplo, Fig. 11-9). Este fenómeno puede parecer paradójico porque las moléculas de agua no interactúan con los compuestos hidrófobos. Por lo tanto, ¿cómo pueden "detectar" su presencia y modificar su comportamiento de modo de interactuar de manera diferente entre sí? Explique este proceso y desarrolle un concepto claro del significado de una estructura "en forma de jaula" ¿En qué sentido esta estructura puede compararse con el hielo? ¿Por qué razones esta estructura en forma de jaula sería desventajosa desde una perspectiva energética?

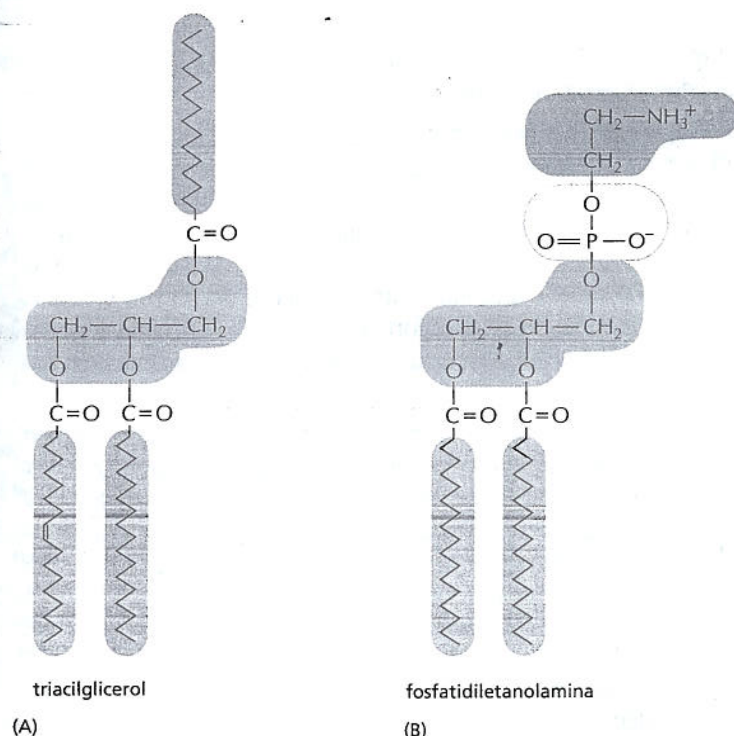
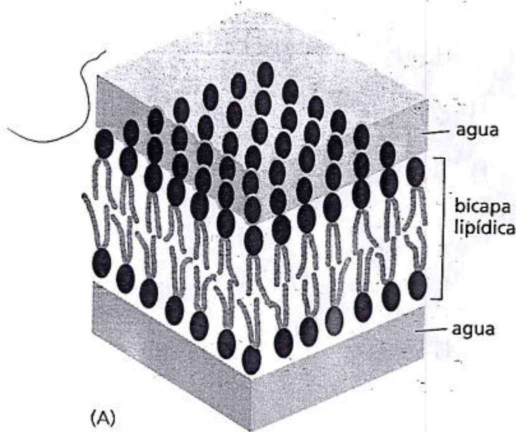


Figura 11-10. Las moléculas de grasa son hidrófobas, mientras que los fosfolípidos son anfipáticos. (A). El triacilglicerol, una molécula de grasa, es enteramente hidrófobo. (B). Los fosfolípidos; por ejemplo la fosfatidiletanolamina, son anfipáticos y contienen fracciones hidrófobas e hidrófilas. Las fracciones hidrófobas se indican con color rosa y las fracciones hidrófilas con colores azul y amarillo. (La tercera cola hidrófoba de la molécula de triacilglicerol se dirige hacia arriba para que se la pueda comparar con el fosfolípido, aunque normalmente se dirige hacia abajo).



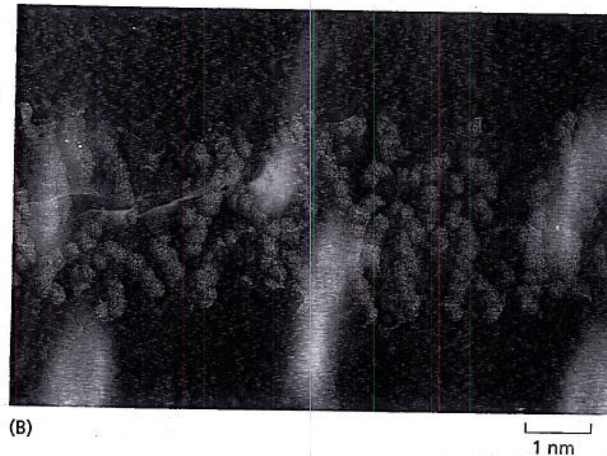


Figura 11-11. Los fosfolípidos anfipáticos forman una bicapa en el agua. (A). Esquema de una bicapa de fosfolípido en agua. (B). Simulación computarizada que muestra las moléculas de fosfolípidos (cabezas *rojas* y colas *anaranjadas*) y las moléculas de agua circundantes (azul) en un corte transversal de una bicapa lipídica. (B, adaptada de *Science* 262:223-228, 1993, con autorización de AAAS; cortesía de R. Venable y R. Pastor).

comenzar a plegarse sobre sí misma y a fragmentarse formando vesículas aisladas. En ambas situaciones, el principio prevaleciente consiste en la eliminación rápida de los bordes libres.

El principio de eliminación de los bordes libres implica una consecuencia de suma importancia: la única manera que una lámina finita puede evitar la presencia de bordes libres es mediante el curvado y el sellado que forma un espacio cerrado (Fig. 11-12). Por consiguiente, las moléculas anfipáticas, como los fosfolípidos, necesariamente se ensamblan formando recipientes autosellados que definen compartimientos cerrados. Este comportamiento notable es fundamental en una célula viva y, en esencia, es una consecuencia del hecho de que cada molécula sea hidrófila en un extremo e hidrófoba en el extremo opuesto.

La bicapa lipídica es un fluido bidimensional

El medio acuoso a ambos lados de la membrana celular impide que los lípidos de membrana se fuguen de la bicapa, pero nada impide que estas moléculas se desplacen libremente e intercambien posiciones dentro de la bicapa propiamente dicha. En consecuencia, la membrana se comporta como un fluido bidimensional y este comportamiento es esencial para su funcionalidad e integridad (Película 11.1). Esta propiedad difiere de la *flexibilidad*, que se define como la capacidad de curvatura de la membrana. La flexibilidad de la membrana también reviste importancia e impone un límite inferior de alrededor de 25 nm al tamaño de las vesículas que pueden generar las membranas celulares.

La fluidez de la bicapa lipídica puede estudiarse con el uso de bicapas lipídicas sintéticas, que se obtienen con facilidad mediante la agregación espontánea de moléculas lipídicas anfipáticas en un medio acuoso. En los estudios experimentales suelen utilizarse dos tipos de bicapas lipídicas sintéticas. Las vesículas esféricas cerradas, llamadas liposomas, se obtienen mediante el agregado de fosfolípidos puros al agua; el tamaño de los liposomas varía alrededor de 25 nm y 1 mm de diámetro (Fig. 11-13). También es posible formar bicapas de fosfolípidos planas a través de un orificio creado en un tabique que separa dos compartimientos acuosos (Fig. 11-14).

Estas bicapas artificiales simples permiten mediciones precisas del desplazamiento de las moléculas lipídicas, lo que revela que algunos tipos de movimientos son raros mientras que otros son frecuentes y rápidos. Así, en las bicapas lipídicas sintéticas la molécula de fosfolípidos rara vez pasan desde una monocapa (una mitad de la bicapa) a la otra. Se estima que en ausencia de proteínas que faciliten este proceso y en condiciones similares a las presentes en una célula, este fenómeno –denominado "flip-flop"– tiene lugar menos de una vez por mes para cada molécula de lípidos. Además, los cambios térmicos determinan que las moléculas lipídicas presentes en el interior de una monocapa intercambien continuamente su lugar con el de las moléculas vecinas (Fig. 11-15). Este intercambio conduce a

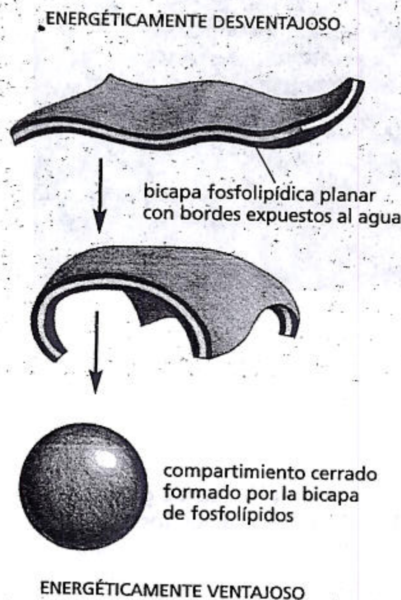
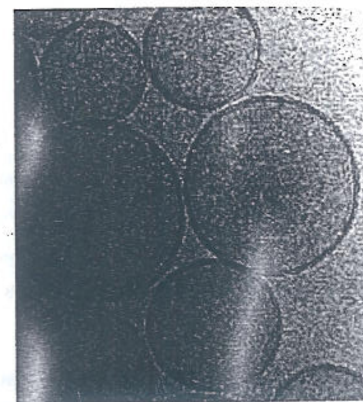
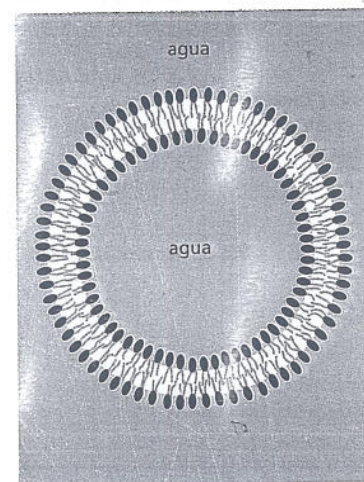


Figura 11-12. Las bicapas de fosfolípidos se repliegan espontáneamente sobre sí mismas formando compartimientos cerrados. La estructura cerrada es estable porque evita la exposición de las colas hidrocarbonadas hidrófobas al agua, lo cual sería desventajoso desde una perspectiva energética.

Figura 11-13. Los fosfolípidos puros pueden formar liposomas esféricos cerrados. (A). Microfotografía electrónica de vesículas de fosfolípidos (liposomas) que muestra la estructura en bicapa de la membrana. (B). Dibujo del corte transversal de un pequeño liposoma esférico. (A, cortesía de Jean Lepault).


(A)



(B)

una difusión rápida de las moléculas en el plano de la membrana de modo que, por ejemplo, una molécula lipídica en una bicapa artificial puede difundir a lo largo de una distancia equivalente al diámetro de una célula bacteriana de gran tamaño (~2 µm) en un segundo aproximadamente. Si disminuye la temperatura, se reduce la velocidad del desplazamiento de los lípidos y, por ello, la fluidez de la bicapa.

Resultados similares se obtuvieron en membranas celulares y células enteras aisladas, lo que indica que la bicapa lipídica de una membrana celular también se comporta como un fluido bidimensional en el cual las moléculas lipídicas constituyentes se desplazan libremente en su propia capa en cualquier dirección del plano de la membrana. Estos estudios también muestran que las cadenas hidrocarbonadas son flexibles y que las moléculas lipídicas individuales que se encuentran dentro de una monocapa rotan con mucha rapidez alrededor de sus ejes longitudinales, en algunos casos a una velocidad de 30.000 revoluciones por minuto (véase Fig. 11-15). Al igual que en las bicapas sintéticas, las moléculas de fosfolípido individuales presentes en el interior de las células normalmente se mantienen dentro de la monocapa correspondiente y no están sujetas a un proceso de "flip-flop" espontáneo.

La fluidez de una bicapa lipídica depende de su composición

La fluidez de una membrana celular, es decir, la facilidad con la que las moléculas lipídicas que la constituyen se desplazan en el plano de la bicapa, es un factor determinante de la función de la membrana y debe ser preservado dentro de ciertos límites. El grado de fluidez de una bicapa lipídica a cierta temperatura depende de su composición fosfolipídica y, sobre todo, de la naturaleza de las colas hidrocarbonadas: cuanto más regular y compacto sea el agrupamiento de las colas, más viscosa (es decir menos fluida) será la bicapa. El grado de compactación de las colas hidrocarbonadas en la bicapa lipídica depende de dos propiedades importantes: de su longitud y del número de enlaces que contienen.

La longitud menor de la cadena reduce la interacción de las colas hidrocarbonadas entre sí y, por lo tantó, aumenta la fluidez de la bicapa. La longitud de las colas hidrocarbonadas de las moléculas de fosfolípidos de la membrana varía entre 14 y 24 átomos de carbono, lo común es de 18 a 20 átomos.

La mayoría de los fosfolípidos contiene una cola hidrocarbonada con uno o más enlaces dobles entre los átomos de carbono vecinos y una segunda cola hidrocarbonada que sólo tiene enlaces simples (véase Fig. 11-6). La cadena que posee un enlace doble no contiene la máxima cantidad de átomos de hidrógeno que en principio podrían unirse al esqueleto de átomos de carbono y por esto se considera **insaturada** con respecto a los átomos de hidrógeno. La cola de ácidos grasos sin enlaces dobles posee un complemento completo de átomos de hidrógeno, es decir, está **saturada**. Cada enlace doble en una cola insaturada determina un pequeño ensortijamiento de la cola hidrocarbonada (véase Fig. 11-6) que dificul-

PREGUNTA 11-2

Cinco estudiantes de su clase siempre se sientan juntos en la primera fila. Esto podría deberse a que (A) se llevan bien y quieren estar juntos o (B) ningún otro alumno de la clase quiere sentarse con ellos. ¿Cuál de estas dos razones es válida para explicar el mantenimiento del ensamblado de una bicapa lipídica? Desarrolle el concepto. Suponga que las moléculas lipídicas se comportaran de la otra manera. ¿En qué diferirían las propiedades de la bicapa lipídica?

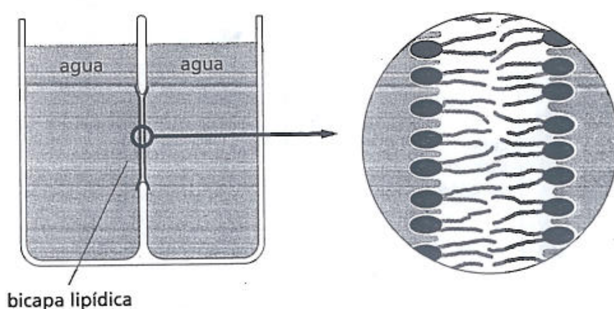


Figura 11-14. Puede formarse una bicapa de fosfolípidos sintética a través de un orificio pequeño (alrededor de 1 mm de diámetro) en un tabique que separa dos compartimientos acuosos. Para permitir la formación de la bicapa planar el tabique se sumerge en una solución acuosa y la solución de fosfolípidos (en un solvente no acuoso) se aplica con un pincel a través del orificio.

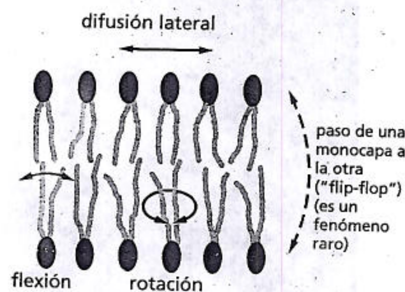


Figura 11-15. Los fosfolípidos pueden desplazarse dentro del plano de la membrana. El dibujo ilustra los distintos tipos de movimiento posibles para las moléculas de fosfolípidos en una bicapa lipídica.

ta el agrupamiento estrecho de las colas entre sí. Por ese motivo, las bicapas lipídicas que contienen un alto porcentaje de colas hidrocarbonadas insaturadas son más fluidas que las bicapas con una menor proporción estas colas.

En las células de bacterias y levaduras, que se deben adaptar a temperaturas muy variables, tanto la longitud como la insaturación de las colas hidrocarbonadas de la bicapa lipídica experimentan un ajuste continuo que mantiene un estado de fluidez relativamente constante de la membrana; por ejemplo, en presencia de una temperatura más elevada, la célula elabora lípidos con colas más largas que contienen una menor cantidad de enlaces dobles. Este recurso es comparable con el que se utiliza para la fabricación de margarina a partir de aceites vegetales. A diferencia de las grasas animales, como la manteca o la grasa del tocino que, por lo general, son saturadas y, como consecuencia, se mantienen sólidas a temperatura ambiente, las grasas producidas por las plantas, en general, son insaturadas y por ese motivo se mantienen líquidas a temperatura ambiente. La margarina está compuesta por aceites vegetales hidrogenados donde los enlaces dobles se han eliminado mediante el agregado de hidrógeno para aumentar la solidez de la margarina y lograr que se parezca más a la mantequilla a temperatura ambiente.

En las células animales la fluidez de la membrana se debe al esterol **colesterol** (Fig. 11-16A). Las moléculas cortas y rígidas de colesterol están presentes en cantidad especialmente abundante en la membrana plasmática, donde rellenan los espacios que separan a las moléculas de fosfolípidos vecinos y que fueron dejados por los ensortijamientos de sus colas hidrocarbonadas insaturadas (Fig. 11-16B). Mediante este mecanismo el colesterol tiende a endurecer la bicapa lipídica y la torna más rígida y menos permeable. En la **Película 11.2** se muestran las propiedades químicas de los lípidos de la membrana y el modo en que éstos afectan la fluidez de la membrana.

La fluidez de la membrana es un factor importante en todas las células por varios motivos. En primer lugar, es importante porque permite que las proteínas difundan con rapidez en el plano de la bicapa y que interactúen entre sí, dos fenómenos esenciales, por ejemplo, para el proceso de señalización celular (descrito en el capítulo 16). En segundo lugar, la fluidez de la membrana permite que los lípidos y las proteínas difundan desde los sitios en los que se insertan en el interior de la bicapa lipídica después de su síntesis hacia otras regiones de las células, posibilita la fusión de las membranas entre sí lo que permite que se mezclen las respectivas moléculas y garantiza que las moléculas de la membrana se distribuyan en forma equitativa entre las células hijas después de la división de una célula. Es difícil imaginar de qué manera podrían vivir, crecer y reproducirse las células si sus membranas no fuesen fluidas.

La bicapa lipídica es asimétrica

Las membranas celulares, por lo general, son asimétricas y presentan un aspecto muy diferente en la cara expuesta al interior de la célula o a un orgánulo que en

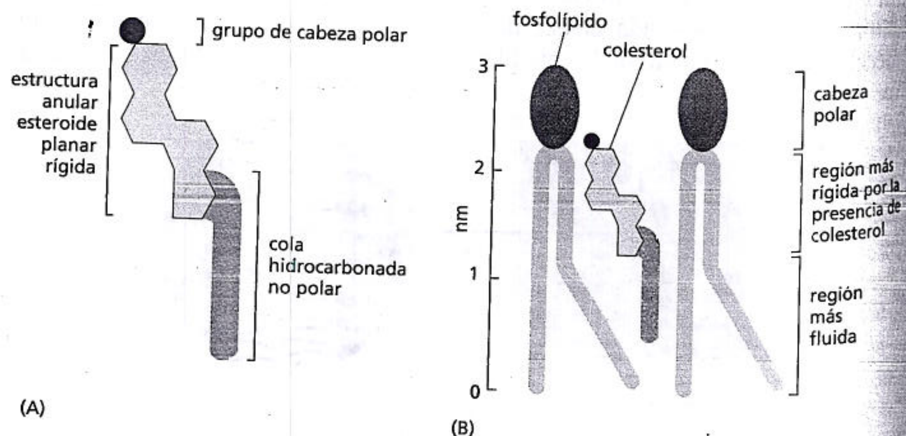


Figura 11-16. El colesterol aumenta la rigidez de las membranas celulares. (A). Estructura del colesterol. (B). Ubicación del colesterol en el interior de los espacios que separan las moléculas de fosfolípidos en una bicapa lipídica. La fórmula química del colesterol se ilustra en la figura 11-7.

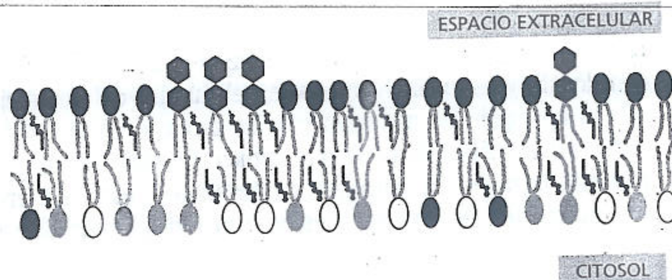


Figura 11-17. Los fosfolípidos y los glucolípidos presentan una distribución asimétrica en la bicapa lipídica de la membrana plasmática. Se ilustran cinco tipos de moléculas de fosfolípidos señaladas por distintos colores: fosfatidilcolina (*rojo*), esfingomielina (*marrón*), fosfatidilserina (*verde claro*), fosfatidilinositol (*verde oscuro*) y fosfatidiletanolamina (*amarillo*). Los glucolípidos fueron dibujados con grupos de cabeza hexagonales *azules* que representan azúcares. Todas las moléculas de glucolípidos se localizan en la monocapa externa de la membrana, mientras que el colesterol (*gris*) se distribuye en cantidad casi equivalente en ambas monocapas. El fosfatidilinositol (no mostrado) es un lípido menor que se encuentra siempre en la monocapa citosólica de la membrana plasmática, donde participa en la señalización celular. Dado que su grupo en la cabeza es una azúcar inositol constituye, en consecuencia, una excepción y se ubica en un sitio diferente de los demás glucolípidos.

la cara expuesta al medio externo de la célula. Las dos mitades de la bicapa con frecuencia muestran diferencias importantes en cuanto a la composición de los fosfolípidos y los glucolípidos (Fig. 11-17). Además, las proteínas embebidas en la bicapa tienen una orientación específica que es esencial para su función.

La asimetría lipídica comienza en el momento de la síntesis de estos compuestos. En las células eucariontes, la síntesis de nuevas moléculas de fosfolípidos depende de enzimas unidas a la parte de la membrana del *retículo endoplasmático* (RE) expuesta al citosol; estas enzimas utilizan como sustratos ácidos grasos disponibles en la mitad interna de la bicapa, es decir la monocapa citosólica, y liberan los fosfolípidos sintetizados recientemente en esa misma monocapa. Para que la membrana en su totalidad pueda desarrollarse de manera uniforme es necesario que una parte de las moléculas lipídicas se transfieran a la otra monocapa. Esta transferencia es catalizada por enzimas denominadas *flipasas* (Fig. 11-18). En la membrana plasmática, las flipasas transfieren moléculas de fosfolípidos específicas en forma selectiva, lo que determina que en cada monocapa se concentren distintos tipos de moléculas.

Sin embargo, la participación de flipasas selectivas no es la única manera de producir asimetría en las bicapas lipídicas. En el caso de los glucolípidos en particular, que representan las moléculas lipídicas asociadas con el grado más notable y sistemático de asimetría en las células animales, el mecanismo que participa es diferente (Fig. 11-17). Para explicar la distribución de estos compuestos es necesario conocer con mayores detalles la vía de formación de una nueva membrana en las células eucariontes.

La asimetría lipídica se conserva durante el transporte de membrana

En las células eucariontes casi todo el proceso de síntesis de nueva membrana tiene lugar en el interior de un compartimiento intracelular, el *retículo endoplasmático* (RE; véase Fig. 11-3). La membrana recién ensamblada se exporta a otras membranas de la célula a través de un ciclo de gemación y fusión de la membrana: del RE se desprenden pequeñas porciones de membrana que forman pequeñas vesículas que luego se incorporarán a otra membrana, como la plasmática, mediante un proceso de fusión (**Fig. 11-19**). Durante el proceso de formación vesicular y fusión se mantiene la orientación de la bicapa en relación con el citosol. Esto significa que todas las membranas celulares, incluidas la membrana plasmática externa y las membranas intracelulares internas que rodean a los orgánulos, poseen una superficie "interna" y una superficie "externa" distintas, que quedan establecidas en el momento de la síntesis de la membrana: la superficie *citosólica* siempre es adyacente al citosol, mientras que la superficie *no citosólica* está expuesta al exterior de la célula o al espacio interior de un orgánulo (véase Fig. 11-19).

Los glucolípidos se localizan sobre todo en la membrana plasmática y están presentes exclusivamente en la mitad no citosólica de la bicapa. En consecuencia, los grupos azúcares que los componen están expuestos al exterior de la célula (véase Fig. 11-17), en donde forman parte de una cubierta protectora continua de hidratos de carbono que rodea a casi todas las células animales. Las moléculas de glucolípidos adquieren sus grupos azúcares en el complejo de Golgi (descrito en el

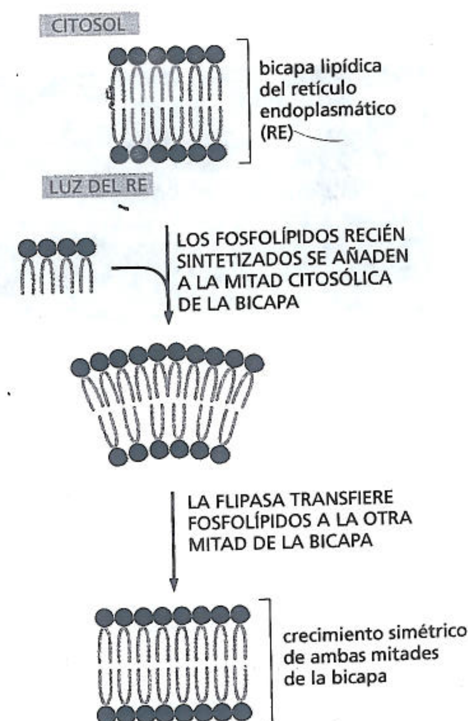


Figura 11-18. Las flipasas participan en la síntesis de la bicapa lipídica. Las moléculas de fosfolípidos recién sintetizadas se añaden al lado citosólico de la membrana del retículo endoplasmático. A continuación, las flipasas transfieren algunas de estas moléculas hacia la otra monocapa, lo que determina la expansión de toda la bicapa.

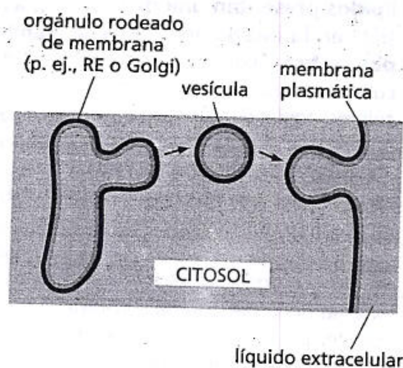


Figura 11-19. Las membranas retienen su orientación incluso después de la transferencia entre los compartimientos celulares. Las membranas son transportadas por un proceso de gemación y fusión de vesículas. Se ilustra una vesícula de membrana que se genera por gemación a partir de un orgánulo revestido de membrana (como retículo endoplasmático o Golgi) y se fusiona con la membrana plasmática. Obsérvese que durante el proceso de gemación y fusión de la vesícula se mantiene la orientación de la membrana: la superficie citosólica original *(roja)* continúa mirando hacia el citosol y la superficie no citosólica *(anaranjada)* se opone al citosol y mira hacia la luz del orgánulo o de la vesícula, o hacia el líquido extracelular.

capítulo 15). Las enzimas que catalizan el agregado de estos grupos se encuentran localizadas exclusivamente en el interior del complejo de Golgi, de manera que el agregado de azúcares sólo se produce en las moléculas de lípidos de la mitad no citosólica de la bicapa lipídica. Después de su generación mediante este proceso, la molécula glucolipídica permanece atrapada en esta monocapa, dado que no existen flipasas capaces de transferir glucolípidos a la monocapa citosólica. En consecuencia, cuando la molécula de glucolípido llega finalmente a la membrana plasmática, se orienta en la dirección contraria al citosol con el grupo azúcar expuesto en la parte exterior de la célula (véase Fig. 11-19).

Otras moléculas lipídicas presentan distintos tipos de distribución asimétrica relacionados con sus respectivas funciones. Por ejemplo, los fosfolípidos de inositol son componentes menores de la membrana plasmática, pero desempeñan una función especial en la transmisión de señales desde la superficie celular hacia los componentes intracelulares que responden a esas señales (analizado en el capítulo 16). Estos compuestos sólo actúan una vez transmitida la señal a través de la membrana plasmática y por ese motivo están concentrados en la mitad citosólica de la bicapa lipídica (véase Fig. 11-17).

PREGUNTA 11-3

Puede parecer paradójico que una bicapa lipídica sea a la vez fluida y asimétrica. Explique este fenómeno.

PROTEÍNAS DE MEMBRANA

Si bien la bicapa lipídica representa la estructura fundamental de todas las membranas celulares y actúa como una barrera de permeabilidad para el pasaje de las moléculas hacia ambos lados de la membrana, la mayoría de las funciones de la membrana depende de las **proteínas de membrana**. En los animales, las proteínas constituyen alrededor del 50% de la masa total de la mayor parte de las membranas plasmáticas, mientras que el 50% restante está compuesto por lípidos y una cantidad relativamente pequeña de hidratos de carbono. No obstante, como las moléculas lipídicas son mucho más pequeñas que las moléculas proteicas, en una membrana típica se observan alrededor de 50 moléculas lipídicas por cada molécula de proteína (véase Fig. 11-4).

Además de transportar nutrientes, metabolitos y iones a través de la bicapa lipídica, las proteínas de membrana cumplen otras funciones. Algunas contribuyen al anclaje de la membrana a macromoléculas presentes en uno u otro lado de la membrana. Otras actúan como receptores capaces de detectar señales químicas en el medio celular y transmitirlas al interior de la célula, mientras que otras actúan como enzimas que catalizan reacciones específicas (**Fig. 11-20; Cuadro 11-1**). Cada tipo de membrana posee un conjunto diferente de proteínas, lo que refleja las funciones especializadas de cada membrana. En esta sección comentaremos la estructura de las proteínas de membrana y sus diferentes maneras de asociarse con la bicapa lipídica.

Las proteínas de membrana se asocian con la bicapa lipídica de diversas maneras

Las proteínas pueden asociarse con la bicapa lipídica de una membrana celular de las siguientes maneras (**Fig. 11-21**):

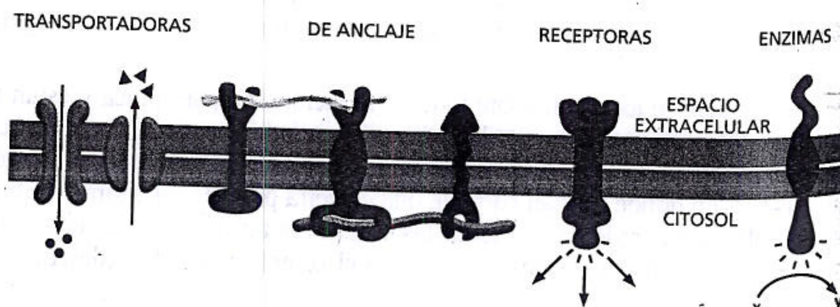


Figura 11-20. Las proteínas de la membrana plasmática cumplen una diversidad de funciones.

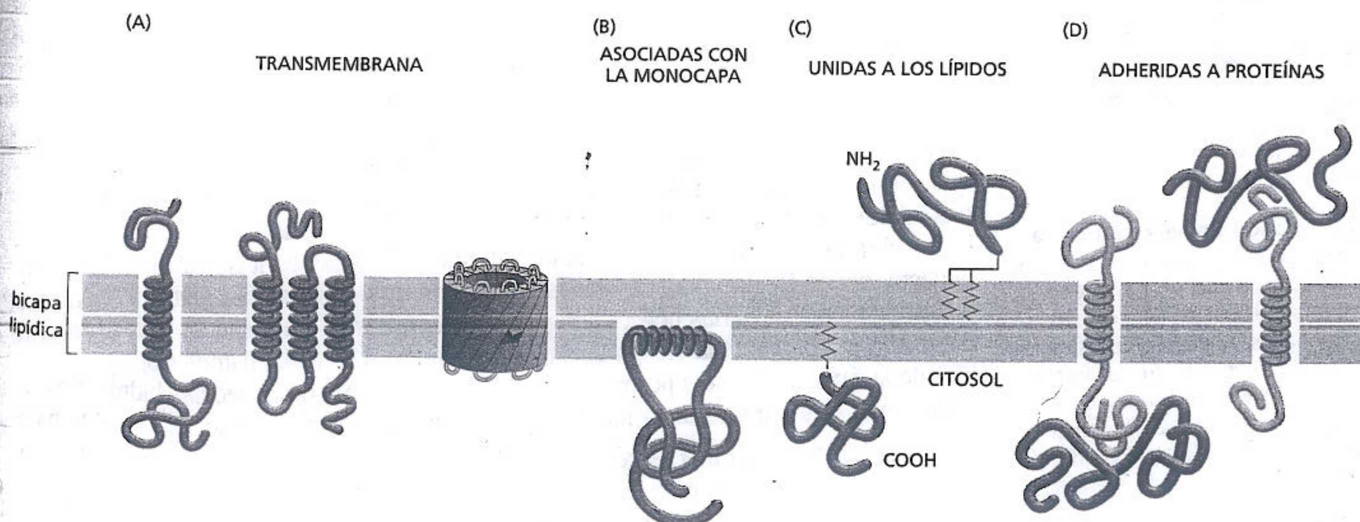
CUADRO 11-1 ALGUNOS EJEMPLOS DE PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA Y SUS FUNCIONES

CLASE FUNCIONAL	EJEMPLO DE PROTEÍNA	FUNCIÓN ESPECÍFICA
Transportadoras	Bomba de Na+	Bombea activamente Na+ hacia el exterior de las células y K+ hacia el interior (Capítulo 12)
De anclaje	Integrinas	Une los filamentos de actina intracelulares con las proteínas de la matriz extracelular (Capítulo 20)
Receptoras	Receptores del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	Une el PDGF extracelular y, en consecuencia, genera señales intracelulares que inducen el crecimiento y la división de las células (Capítulo 18)
Enzimas	Adenilatociclasa	Cataliza la producción de AMP cíclico intracelular en respuesta a señales extracelulares (Capítulo 16)

1. Muchas proteínas de membrana se extienden a través de la bicapa de forma que parte de su masa se localiza a ambos lados de la membrana (Fig. 11-21A). Al igual que los lípidos vecinos, estas *proteínas transmembrana* tienen regiones hidrófobas e hidrófilas. Las regiones hidrófobas se localizan en el interior de la bicapa, en contacto con las colas hidrófobas de las moléculas lipídicas. Las regiones hidrófilas están expuestas al medio acuoso de ambos lados de la membrana.
2. Otras proteínas de membrana se localizan exclusivamente en el citosol y se asocian con la lámina interna de la bicapa lipídica mediante una hélice α anfipática expuesta en la superficie de la proteína (Fig. 11-21B).
3. Algunas proteínas se encuentran enteramente por fuera de la bicapa (de un lado o del otro) y se unen a la membrana sólo mediante uno o dos grupos lipídicos unidos por enlaces covalentes (Fig. 11-21C).
4. Por último, otras proteínas están unidas de manera indirecta a una de las superficies de la membrana y se mantienen in situ mediante interacciones con otras proteínas de membrana (Fig. 11-21D).

Las proteínas que se encuentran directamente unidas a la membrana, sean transmembrana, asociadas con la monocapa o unidas a lípidos, sólo se puede eliminar por la rotura de la bicapa lipídica con detergentes, como se verá después. Estas proteínas se conocen con el nombre de *proteínas de membrana integrales*. Las proteínas de membrana restantes se denominan *proteínas de membrana periféricas* y pueden separarse de la membrana mediante procedimientos de extracción relativamente delicados que interfieren sobre las interacciones proteicas pero mantienen intacta la bicapa lipídica.

Figura 11-21. Las proteínas de membrana pueden asociarse con la bicapa lipídica de varias maneras diferentes. (A) Las proteínas transmembrana pueden extenderse a través de la bicapa en la forma de una hélice α simple, en la forma de múltiples hélices α o en la forma de una lámina β enrollada (llamada barril β). (B) Algunas proteínas de membrana están ancladas a la superficie citosólica por una hélice α anfipática. (C) Otras proteínas de membrana están adheridas a ambos lados de la bicapa sólo mediante un enlace covalente con una molécula lipídica (líneas *rojas* en zig-zag). (D) Por último, muchas proteínas se mantienen adheridas a la membrana sólo mediante interacciones no covalentes, relativamente débiles, con otras proteínas de membrana.



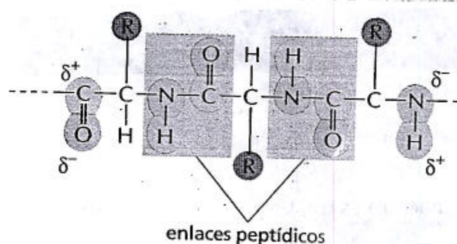


Figura 11-22. Los enlaces peptídicos (sombreados en *gris*) que unen los aminoácidos vecinos en una cadena polipeptídica son polares y en consecuencia hidrófilos. Las cargas parciales (δ− indica una carga negativa parcial y δ+ indica una carga positiva parcial) permiten que estos átomos formen enlaces hidrogenados entre sí cuando el polipéptido se pliega en una hélice α que se extiende por todo el espesor de la membrana (véase Fig. 11-23).

Una cadena polipeptídica suele atravesar la bicapa lipídica adoptando la conformación de hélice α

Todas las proteínas de membrana poseen una orientación específica en la bicapa lipídica, esencial para su función. Por ejemplo, en el caso de una proteína transmembrana que actúa como receptor la porción de la proteína que recibe una señal proveniente del entorno debe estar en la parte externa de la célula y la porción que transmite la señal debe estar en el citosol (véase Fig. 11-20). Esta orientación es consecuencia del modo en que se sintetizan las proteínas de membrana (como se describe en el capítulo 15). Las porciones de una proteína transmembrana localizadas por fuera de la bicapa lipídica están conectadas mediante segmentos especializados de la cadena polipeptídica que se extienden por todo el espesor de la membrana (véase Fig. 11-21A). Estos segmentos deben atravesar el medio hidrófobo del interior de la bicapa lipídica y están compuestos sobre todo por aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas. Como estas cadenas laterales no pueden establecer interacciones favorables con moléculas de agua prefieren el medio lipídico, que está desprovisto de agua.

A diferencia de lo que sucede con las cadenas laterales hidrófobas, los enlaces peptídicos que unen los aminoácidos sucesivos de una proteína normalmente son polares, lo que determina que el esqueleto polipeptídico sea hidrófilo (Fig. 11-22). Dado que la bicapa no contiene agua, los átomos que componen el esqueleto polipeptídico forman enlaces hidrogenados entre sí. La formación de enlaces hidrogenados es máxima si la cadena polipeptídica conforma una hélice α regular, de modo que la mayor parte de los segmentos de las cadenas polipeptídicas que abarcan todo el espesor de la membrana atraviesan la bicapa como hélices α (véase Fig. 4-10). En estas hélices α que abarcan el espesor de la membrana, los amin... ácidos hidrófobos de las cadenas laterales están expuestos a la parte externa de la hélice, en donde entran en contacto con las colas lipídicas hidrófobas, mientras que los átomos presentes en el esqueleto polipeptídico forman enlaces de hidróg... no entre sí del lado interno de la hélice (Fig. 11-23).

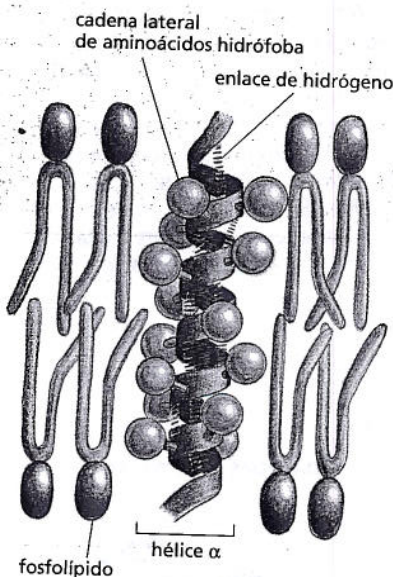


Figura 11-23. Fracción de hélice α que se extiende a través de la bicapa. Las cadenas laterales de aminoácidos hidrófobas que forman la hélice α entran en contacto con las colas hidrocarbonadas hidrófobas de las moléculas de fosfolípidos, mientras que las fracciones hidrófilas del esqueleto polipeptídico forman enlaces de hidrógeno entre ellas en el interior de la hélice. Se requieren alrededor de 20 aminoácidos para abarcar todo el ancho de la membrana.

La cadena polipeptídica de muchas proteínas transmembrana atraviesa la membrana sólo una vez (véase Fig. 11-21A). Muchas de estas proteínas actúan como receptores de señales extracelulares. Otras proteínas transmembrana forman poros acuosos que permiten el pasaje de moléculas hidrosolubles a través de la membrana. Las proteínas con una sola hélice α transmembrana uniformemente hidrófoba no poseen la capacidad de formar estos poros. Las proteínas transmembrana que forman poros son más complejas; en general poseen una serie de hélices α que atraviesan varias veces la bicapa (véase Fig. 11-21A). En muchas de estas proteínas una o más regiones transmembrana están formadas por hélices α que contienen cadenas laterales de aminoácidos hidrófobas e hidrófilas. Las cadenas laterales hidrófobas se localizan del lado de la hélice expuesto a los lípidos de la membrana mientras que las cadenas laterales hidrófilas se localizan del lado opuesto, donde forman parte del revestimiento de un poro hidrófilo generado por el agrupamiento de varias hélices adosadas que conforman un anillo en el interior del medio hidrófobo de la bicapa lipídica (Fig. 11-24). Los mecanismos responsables de la función de estos poros en el transporte selectivo de moléculas hidrosolubles pequeñas a través de la membrana se comentan en el capítulo 12.

Si bien la hélice α sin duda representa la conformación más frecuente que adopta una cadena polipeptídica para atravesar una bicapa lipídica, la cadena polipeptídica de algunas proteínas transmembrana atraviesa la bicapa lipídica en la form...

una lámina α que se pliega conformando un cilindro a modo de barril denominado *barril* β Como cabe esperar, las cadenas laterales de los aminoácidos expuestos a la parte interna del barril que, en consecuencia, tapizan el canal acuoso, son esencialmente hidrófilas, mientras que las cadenas expuestas al exterior del barril entran en contacto con el núcleo hidrófobo de la bicapa lipídica y, por lo tanto, son exclusivamente hidrófobas. El ejemplo más notable de estructura en barril β está representado por las proteínas denominadas *porinas*, que forman grandes poros ocupados por agua en las membranas mitocondriales y bacterianas (Fig. 11-25). Las mitocondrias y algunas bacterias están rodeadas por una doble membrana y las porinas permiten el paso de nutrientes e iones pequeños a través de las membranas externas pero impiden el ingreso de moléculas de gran tamaño, como los antibióticos y las toxinas. A diferencia de las hélices α los barriles β sólo pueden formar canales anchos, dado que la lámina β puede curvarse sólo hasta cierto punto para formar el barril. En este sentido, un barril β es menos versátil que un conjunto de hélices α.

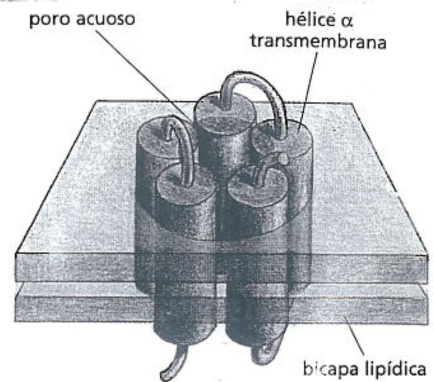


Figura 11-24. Múltiples hélices α pueden formar un poro hidrófilo transmembrana. En este ejemplo, cinco hélices α transmembrana forman un canal ocupado por agua a través de la bicapa lipídica. Las cadenas laterales de aminoácidos hidrófobas (*verde*) de un lado de cada hélice entran en contacto con las colas hidrocarbonadas hidrófobas, mientras que las cadenas laterales hidrófilas (*rojo*) situadas en el lado opuesto de las hélices forman un poro que contiene agua.

Las proteínas de membrana se pueden solubilizar y purificar mediante detergentes

La comprensión cabal de las proteínas requiere que se conozcan sus detalles estructurales y, en el caso de las proteínas de membrana, existen algunas dificultades específicas. La mayoría de los procedimientos bioquímicos fueron concebidos para el estudio de moléculas disueltas en agua o en un solvente simple, pero las proteínas de membrana funcionan en un medio mixto compuesto por agua y lípidos. Esta característica dificulta la tarea de separarlas de ese medio y purificarlas sin alterar su estructura fundamental.

Para que una proteína dada pueda estudiarse en forma detallada es necesario separarla de todas las otras proteínas celulares. En la mayor parte de las proteínas de membrana el primer paso de este proceso consiste en solubilizar la membrana con agentes que destruyan la bicapa lipídica mediante la rotura de las uniones hidrófobas. Los agentes más utilizados con esta finalidad son los **detergentes** (Película 11.3), moléculas anfipáticas pequeñas parecidas a los lípidos que poseen una región hidrófila y otra hidrófoba (Fig. 11-26). Los detergentes se diferencian de los fosfolípidos de membrana por la presencia de una sola cola hidrófoba y en consecuencia muestran un comportamiento sustancialmente distinto. La presencia de una sola cola hidrófoba determina que las moléculas de detergente adopten una forma más parecida a la de un cono; en un medio acuoso estas moléculas tienden a agregarse en pequeños racimos denominados *micelas* en lugar de formar una bicapa como los fosfolípidos, que poseen una forma más cilíndrica.

Al mezclar una cantidad muy abundante de detergentes con membranas los extremos hidrófobos de las moléculas de detergente se unen a la región hidrófoba, que atraviesa el espesor de la membrana de las proteínas transmembrana, y a las colas hidrófilas de las moléculas de fosfolípidos, lo que determina la separación de las proteínas y los fosfolípidos. Dado que el extremo opuesto de la molécula de detergente es hidrófilo, esta asociación tiende a solubilizar las proteínas de membrana en la forma de complejos de proteína-detergente (Fig. 11-27). Al mismo tiempo, el detergente solubiliza los fosfolípidos. Los complejos proteína-detergente pueden separarse entre sí y de los complejos detergente-lípido mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (dodecil sulfato de sodio) descrita en el capítulo 4.

PREGUNTA 11-4

Explique por qué las cadenas polipeptídicas de la mayoría de las proteínas transmembrana atraviesan la bicapa lipídica en forma de hélice α o barril β.

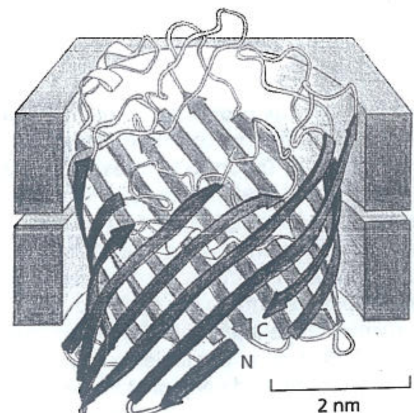


Figura 11-25. Las proteínas porinas forman canales con agua en la membrana externa de una bacteria (*Rhodobacter capsulatus*). Estas proteínas están compuestas por una lámina β de 16 cadenas plegada sobre sí misma que forman un canal transmembrana con agua, como se observa en la estructura tridimensional determinada mediante cristalografía con rayos X. Aunque no se muestra en el dibujo, tres proteínas porinas se asocian y forman trímeros, los que tienen tres canales independientes. (De S.W. Cowan, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 3:501-507, 1993. Con autorización de Elsevier).

dodecil sulfato de sodio (SDS)

tritón X-100

Figura 11-26. El SDS y el Tritón X-100 son dos detergentes que se utilizan con frecuencia. El dodecil sulfato de sodio (SDS) es un detergente iónico (es decir, que posee un grupo ionizado en su extremo hidrófilo) fuerte y el Tritón X-100 es un detergente no iónico (es decir, que posee una estructura no ionizada pero polar en su extremo hidrófilo) suave. Las fracciones hidrófobas de ambos detergentes se ilustran en *azul* y las fracciones hidrófilas se ilustran en *rojo*. Obsérvese que la región del Tritón X-100 encerrada entre corchetes se repite alrededor de 8 veces. Los detergentes iónicos fuertes como el SDS no solo desplazan a las moléculas lipídicas de las proteínas sino que también despliegan las proteínas (véase Lámina 4-5, p. 166).

La estructura completa de las proteínas de membrana se conoce en muy pocos casos

Durante muchos años, gran parte de lo que se conoció acerca de la estructura de las proteínas de membrana se aprendió mediante técnicas indirectas. El método directo estándar para determinar la estructura proteica es la cristalografía con rayos X (véase Fig. 4-48), pero esta técnica requiere un ordenamiento cristalino de la molécula y se ha observado que las proteínas de membrana son más difíciles de cristalizar que las proteínas solubles del citosol celular o de los líquidos extracelulares. No obstante, con los adelantos recientes en la cristalografía ahora se han determinado las estructuras por rayos X de muchas proteínas de membrana con técnicas de alta resolución, como la *bacteriorrodopsina* y un *centro de reacción fotosintética*, ambas proteínas de membrana bacterianas que desempeñan una función importante en la captación y la utilización de la energía solar, propiedad analizada en el capítulo 14. El estudio de las estructura de la bacteriorrodopsina permitió comprender la manera en la que las hélices α atraviesan la bicapa lipídica y de qué forma un conjunto de moléculas proteicas distintas puede ensamblarse y generar complejos funcionales en una membrana.

La **bacteriorrodopsina** es una proteína pequeña (de alrededor de 250 aminoácidos) que está presente en cantidades abundantes en la membrana plasmática de la arqueobacteria *Halobacterium halobium*, que reside en pantanos salinos. La bacteriorrodopsina actúa como una proteína transportadora de membrana responsable del bombeo de H+ (protones) hacia el exterior de la bacteria. Este proceso de bombeo requiere energía y la bacteriorrodopsina la obtiene directamente de la luz solar. Cada molécula de bacteriorrodopsina contiene una sola molécula no proteica que absorbe la luz (llamada *retinal*) y le confiere a la proteína (y a la bacteria) un color púrpura intenso. Esta molécula hidrófoba pequeña se une en forma covalente a una de las siete hélices α transmembrana de la bacteriorrodopsina y se

PREGUNTA 11-5

Respecto de los dos detergentes ilustrados en la figura 11-26, explique por qué las porciones rojas de la molécula son hidrófilas y las porciones azules, hidrófobas. Dibuje un segmento corto de una cadena polipeptídica compuesta por tres aminoácidos con cadenas laterales hidrófobas (véase Lámina 2-5, pp. 72-73) y utilice el mismo código de colores.

monómeros de detergente

cola hidrófoba

cabeza hidrófila

micela de detergente

proteína de membrana en la bicapa lipídica

complejos hidrosolubles de proteína transmembrana y detergente

complejos hidrosolubles mixtos formados por lípidos y micelas de detergente

Figura 11-27. Las proteínas de membrana pueden solubilizarse con un detergente suave, como el Tritón X-100. Las moléculas de detergente (dorado) se muestran como monómeros y micelas, la forma en la que estas moléculas tienden a agregarse en el agua. La cabeza hidrófoba del detergente es el extremo representado por el círculo. El detergente rompe la bicapa lipídica y solubiliza las proteínas en la forma de complejos proteína-detergente. El detergente también solubiliza los fosfolípidos de la membrana.

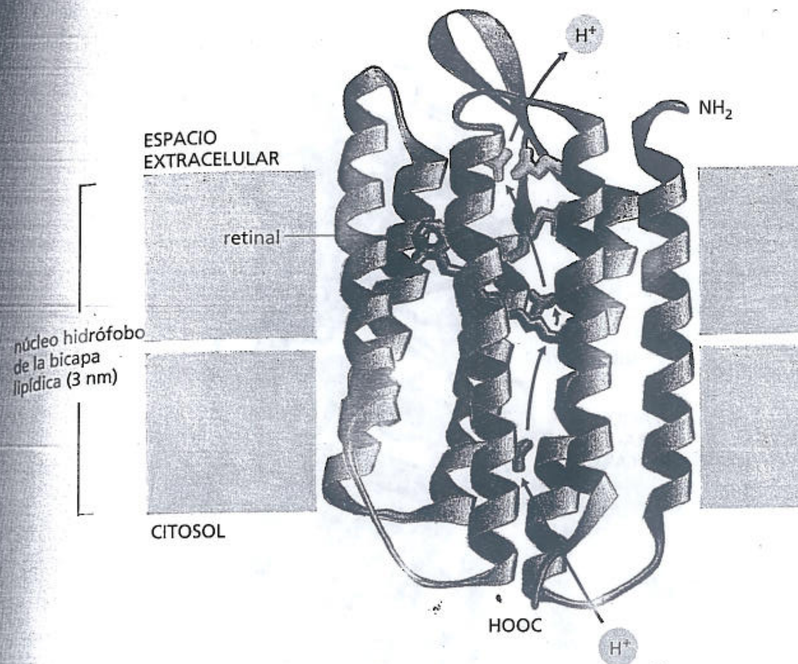


Figura 11-28. La bacteriorrodopsina actúa como una bomba de protones. La cadena polipeptídica cruza la bicapa en la forma de 7 hélices α. Se ilustran la localización de la proteína retinal *(violeta)* y la trayectoria probable que siguen los protones durante el ciclo de bombeo activado por la luz; las cadenas laterales de aminoácidos polares que participaron en el proceso de transferencia de H+ se indican en *rojo, amarillo* y *azul.* Obsérvese que el camino que siguen los protones (flechas *rojas*) les permite evitar el contacto con la bicapa lipídica. Los pasos de la transferencia de protones se muestran en la Película 11.4. La proteína retinal también es utilizada para detectar la luz por el ojo humano, donde se une a una proteína con una estructura muy similar a la de la bacteriorrodopsina. (Adaptada de Luecke et al., *Science* 286:255-260, 1999. Con autorización de la AAAS).

localiza en el plano de la bicapa lipídica, completamente rodeada por estas siete hélices (véase **Fig. 11-28**). Cuando la proteína retinal absorbe un fotón luminoso, su forma cambia y al hacerlo determina que la proteína embebida en la bicapa lipídica sufra una serie de pequeños cambios conformacionales. Estas modificaciones determinan la transferencia de un H+ desde la proteína retinal hacia el exterior de la bacteria: el H+ atraviesa la bicapa lipídica por una vía de cadenas laterales de aminoácidos polares estratégicamente ubicados (véase Fig. 11-28). Más tarde la proteína retinal se regenera mediante la captación de un H+ del citosol, lo que determina que la proteína recupere su conformación inicial y pueda repetirse el ciclo. El resultado final de este proceso es la transferencia de un H+ hacia el exterior de la bacteria, lo que reduce la concentración de H+ en el interior de la célula. En presencia de luz solar, miles de moléculas de bacteriorrodopsina bombean H+ hacia el exterior de la célula, lo que genera un gradiente de concentración de H+ a través de la membrana bacteriana. La célula usa este gradiente de protones para almacenar energía y luego convertirla en ATP, que se describe en detalle en el capítulo 14. La bacteriorrodopsina es un tipo de *proteína transportadora*, una clase de proteína transmembrana que mueve moléculas e iones hacia adentro o hacia afuera de la célula (véase Fig. 11-20). Otros transportadores se describen en el capítulo 12.

En la **figura 11-29** se ilustra la estructura del centro de reacción fotosintética bacteriano. Esta proteína consiste en un complejo de gran tamaño compuesto por cuatro subunidades proteicas. Tres de estas proteínas son proteínas transmembrana; dos de ellas (M y L) poseen numerosas hélices α que atraviesan la bicapa lipídica, mientras que la tercera (H) sólo posee una hélice α. La cuarta molécula proteica (citocromo) se asocia con la superficie externa de la membrana y está unida a las proteínas transmembrana. La totalidad de este complejo proteico actúa como una máquina molecular que capta la energía solar absorbida por la clorofila y produce electrones de alta energía necesarios para las reacciones fotosintéticas (véase capítulo 14). Muchas proteínas de membrana se organizan en complejos de gran tamaño y la estructura del centro de reacción fotosintética es un ejemplo representativo de miles de otras proteínas de membrana cuya estructura aún no se conoce.

La membrana plasmática está reforzada por la corteza celular

La membrana celular propiamente dicha es muy delgada y frágil y para alcanzar el espesor del papel de esta hoja se debería superponer casi 10.000 membranas. Por ese motivo la mayoría de las membranas celulares están reforzadas por un

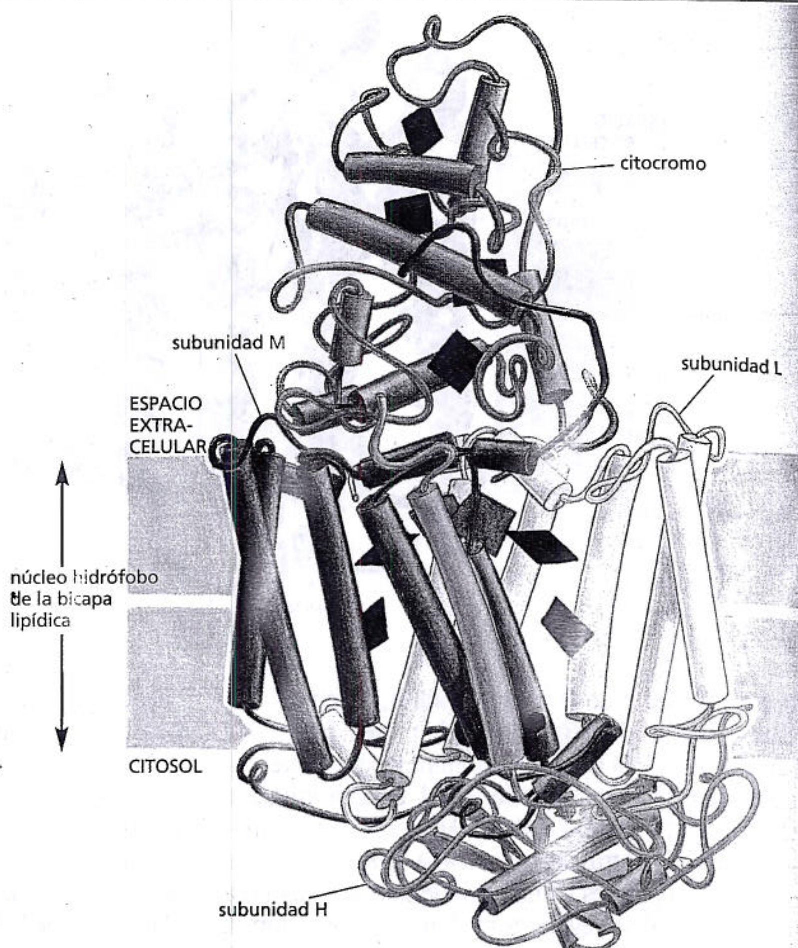


Figura 11-29. El centro de reacción fotosintética de la bacteria *Rhodopseudomonas viridis* capta energía de la luz solar. Esta estructura tridimensional se obtuvo mediante el análisis por difracción de rayos X de los cristales de este complejo proteico transmembrana. El complejo está formado por cuatro subunidades: L, M, H y un citocromo. Las subunidades L y M conforman el núcleo del centro de reacción y cada una de estas estructuras contiene cinco hélices α que abarcan todo el espesor de la bicapa. Todas las hélices α se ilustran con forma de cilindros. La localización de los distintos grupos portadores de electrones, que están unidos por enlaces covalentes a las subunidades proteicas, se ilustran en negro, excepto el par especial de moléculas de clorofila excitadas por la luz, que se ilustra en color *verde oscuro*. Obsérvese que el citocromo está unido a la superficie externa de la membrana exclusivamente por la fijación a las subunidades transmembrana (véase Fig. 11-21D). (Adaptada de un dibujo de J. Richardson sobre la base de datos provenientes de J. Deisenhofer et al. *Nature* 318:618-624, 1985. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

PREGUNTA 11-6

Observe la estructura del centro de reacción fotosintética en la figura 11-29. Como es de esperar, la membrana está atravesada por numerosas hélices α. Sin embargo, en el extremo inferior derecho hay un segmento de la cadena polipeptídica de la subunidad L que conforma un bucle desordenado en el interior del núcleo hidrófobo de la bicapa lipídica. ¿Este hallazgo invalida la regla general que postula que las proteínas transmembrana atraviesan la bicapa lipídica en forma de hélice α o barril β?

esqueleto proteico unido a la membrana mediante proteínas transmembrana. La forma de las células y las propiedades mecánicas de la membrana plasmática están determinadas por una malla de proteínas fibrosas, denominada corteza celular, que se une a la superficie citosólica de la membrana.

La corteza celular de los eritrocitos humanos es una estructura relativamente sencilla y regular y, sin duda, es laque se estudió mejor. Los eritrocitos son células pequeñas con una forma aplanada característica (**Fig. 11-30**). El principal componente de la corteza de los eritrocitos es la *espectrina*, una proteína con forma de bastón, larga, delgada y flexible de alrededor de 100 nm de longitud. La espectrina forma una malla que sostiene la membrana plasmática y preserva la forma de la célula. La malla de espectrina se une a la membrana mediante proteínas

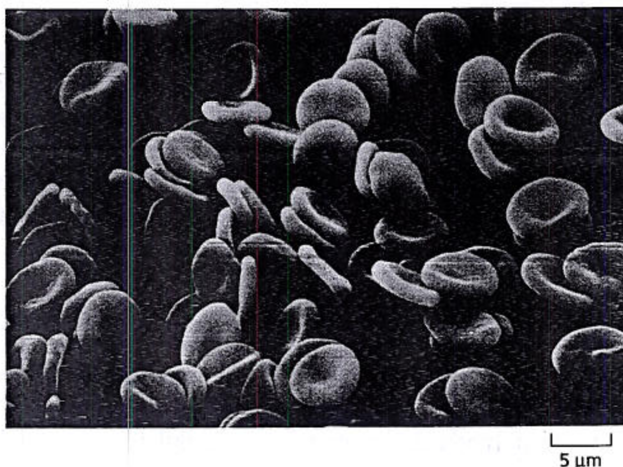
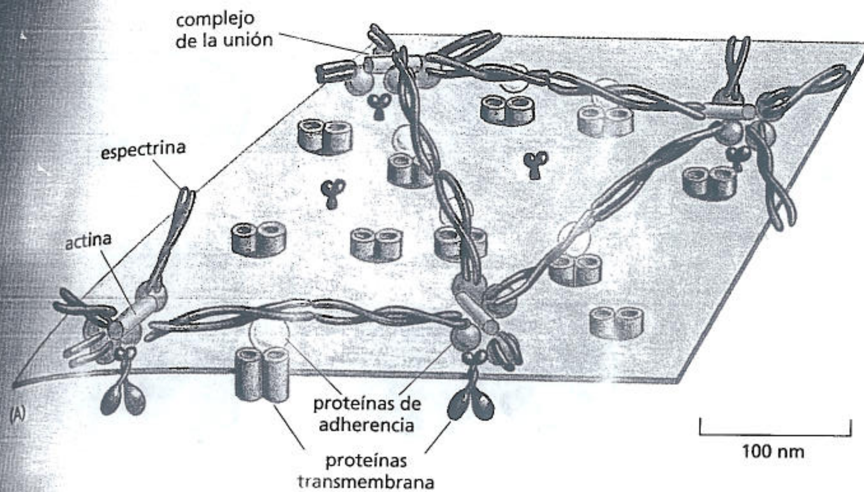
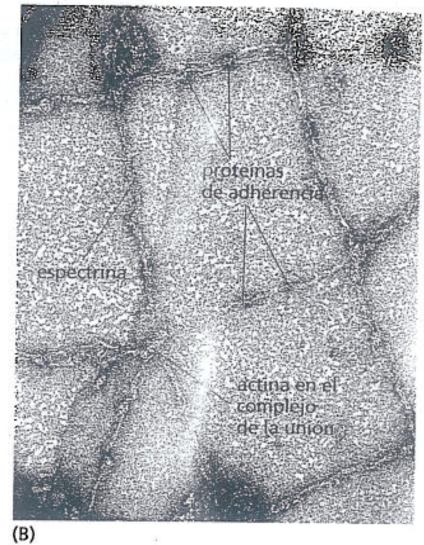


Figura 11-30. Los eritrocitos humanos poseen una forma bicóncava característica, como se puede observar en esta microfotografía electrónica de barrido. Estas células están desprovistas de núcleo y otros orgánulos intracelulares. (Cortesía de Bernadette Chailley).





de adherencia intracelulares que la unen a proteínas transmembrana específicas (Fig. 11-31). La importancia de esta malla puede apreciarse en los ratones y en los seres humanos con anomalías genéticas de la estructura de la espectrina. Estos individuos son anémicos debido a que poseen una cantidad de eritrocitos inferior a la normal y a que los eritrocitos son esféricos en lugar de bicóncavos y anormalmente frágiles.

Las proteínas similares a la espectrina y a las proteínas de adherencia asociadas se encuentran presentes en la corteza de la mayor parte de las células humanas, pero la corteza de estas células es mucho más compleja que la de los eritrocitos. Mientras que en los eritrocitos la función principal de la corteza consiste en proporcionar un soporte mecánico durante el bombeo de eritrocitos a lo largo de los vasos sanguíneos, en las demás células del cuerpo la corteza es necesaria para que las células alteren su morfología en forma activa y se desplacen, como se comentará en el capítulo 17. Además, en muchas células la red cortical impide la difusión de proteínas dentro de membrana, como se verá más adelante.

Figura 11-31. La corteza celular de los eritrocitos humanos está formada por una malla de espectrina. (A). Dímeros de espectrina, junto con una menor cantidad de moléculas de actina, se unen entre sí y forman una malla similar a una red que, a su vez, se fija a la membrana plasmática mediante la unión de al menos dos tipos de proteínas de adherencia (ilustradas en *amarillo* y *azul*) a dos tipos de proteínas transmembrana (ilustradas en *verde* y *marrón*). (B). Microfotografía electrónica que ilustra la malla de espectrina del lado citoplasmático de la membrana de un eritrocito. En este dibujo la malla de espectrina está desplegada para mostrar detalles de su estructura; en condiciones normales la red de espectrina ocupa sólo una décima parte de esta superficie. (B, cortesía de T. Byers y D. Branton, *Proc. Natl. Acad. Sci.*U.S.A. 82:6153-6157, 1985. Con autorización de la National Academy of Sciences).

Las células pueden limitar el movimiento de las proteínas de membrana

Dado que una membrana es un fluido bidimensional, muchas de sus proteínas pueden, al igual que los lípidos, desplazarse libremente dentro del plano de la bicapa lipídica. Este proceso de difusión se puede demostrar con facilidad mediante la fusión de una célula de ratón con una célula humana para generar una célula híbrida de gran tamaño y evaluar con posterioridad la distribución de las proteínas de membrana plasmática humanas y murinas. Aunque en un primer

PREGUNTA 11-7

Observe detenidamente las proteínas transmembrana ilustradas en la figura 11-31. ¿Qué puede decir acerca de su movilidad en la membrana?

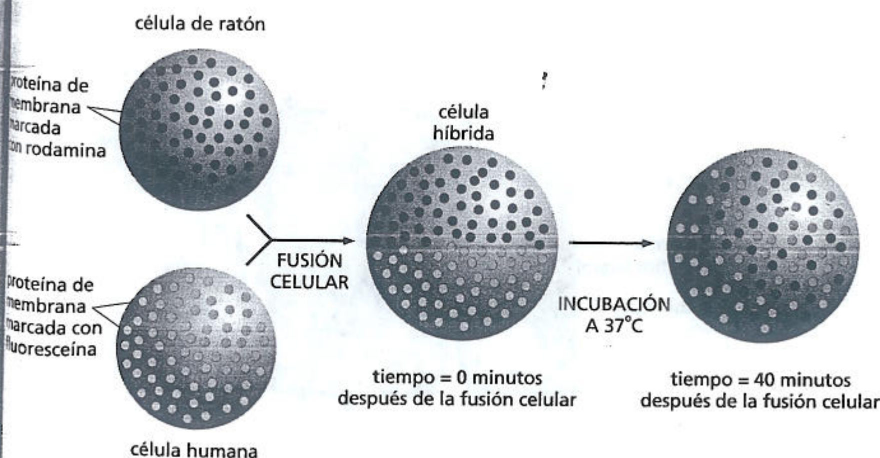


Figura 11-32. La formación de células híbridas murinas-humanas muestra que las proteínas de la membrana plasmática pueden desplazarse. En una fase inicial las proteínas murinas y humanas están confinadas en sus mitades respectivas de la membrana plasmática de la célula híbrida recién formada pero después de transcurrido un breve lapso se entremezclan. Para detectar las proteínas, los anticuerpos que se unen a las proteínas humanas y murinas se identificaron con dos marcadores fluorescentes distintos (rodamina o fluoresceína, respectivamente) y después se añadieron a las células. El examen con microscopio de fluorescencia permite diferenciar ambos tipos de anticuerpos fluorescentes, dado que la fluoresceína es *verde* y la rodamina es *roja.* (Basada en observaciones llevadas a cabo por L. D. Frye y M. Edidin, *J. Cell. Sci.* 7:319-335, 1970. Con autorización de The Company of Biologists Ltd.).

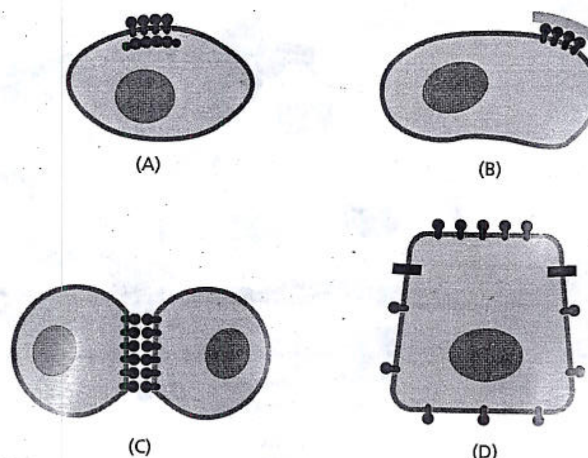


Figura 11-33. El desplazamiento lateral de las proteínas de la membrana plasmática puede limitarse de distintas maneras. Las proteínas pueden estar ancladas a la corteza celular del lado interno de la célula (A), a moléculas de la matriz extracelular situadas en la parte exterior de la célula (B), o a proteínas localizadas sobre la superficie de otra célula (C). Las barreras de difusión (ilustradas en forma de barras *negras*) pueden confinar a las proteínas en un dominio particular de la membrana (D).

momento las proteínas murinas y humanas se mantienen confinadas en sus propias mitades de la célula híbrida recientemente formada, en el transcurso de unos 30 minutos ambos grupos de proteínas se mezclan a lo largo de toda la extensión de la superficie celular (Fig. 11-32).

No obstante, la imagen de la membrana como un mar de lípidos donde flotan libremente las proteínas es demasiado simplista. Las células cuentan con medios para confinar determinadas proteínas de la membrana plasmática en zonas localizadas de la bicapa lipídica, lo que conduce a la formación de regiones funcionalmente especializadas, o **dominios de membrana**, en la superficie de una célula o de un orgánulo. Algunas de las técnicas modernas para el estudio del movimiento de las proteínas de membrana se describen en **Biología experimental**, pp. 382-383).

Como se ilustra en la **figura 11-33**, las proteínas pueden unirse a estructuras fijas localizadas en el exterior de la célula, por ejemplo, a moléculas de la matriz extracelular (descrito en el capítulo 20), o a estructuras relativamente inmóviles del interior de la célula, sobre todo a la corteza celular (véase **Fig. 11-31**). Por último, las células pueden generar barreras que confinen a ciertos componentes de la membrana particulares en un dominio de membrana. En las células epiteliales que tapizan el intestino es importante que las proteínas transportadoras que participan en la captación de nutrientes desde la luz intestinal permanezcan confinadas en la superficie *apical* de la célula (la superficie expuesta al contenido intestinal) y que otras proteínas que participan en el transporte de solutos desde el interior de las células epiteliales hacia los tejidos y la circulación sanguínea permanezcan confinadas en las superficies *basal* y *lateral* de las células (**Fig. 11-34**). Esta distribución irregular de las proteínas de membrana se mantiene por la presencia de una barrera formada a lo largo de la línea de unión entre las células vecinas mediante las llamadas *uniones ocluyentes o estrechas*. En este nivel hay proteínas de adherencia especializadas que conforman un cinturón continuo alrededor de la

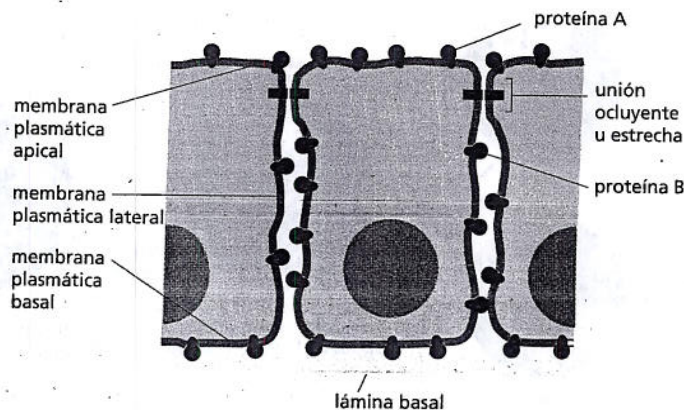


Figura 11-34. Una proteína de membrana está confinada en un dominio particular de la membrana plasmática de una célula epitelial del intestino. La proteína A (en la membrana apical) y la proteína B (en las membranas basal y lateral) pueden difundirse en dirección lateral en sus dominios de membrana respectivos pero su ingreso en el otro dominio es impedido por una unión intercelular especializada denominada unión ocluyente u estrecha.

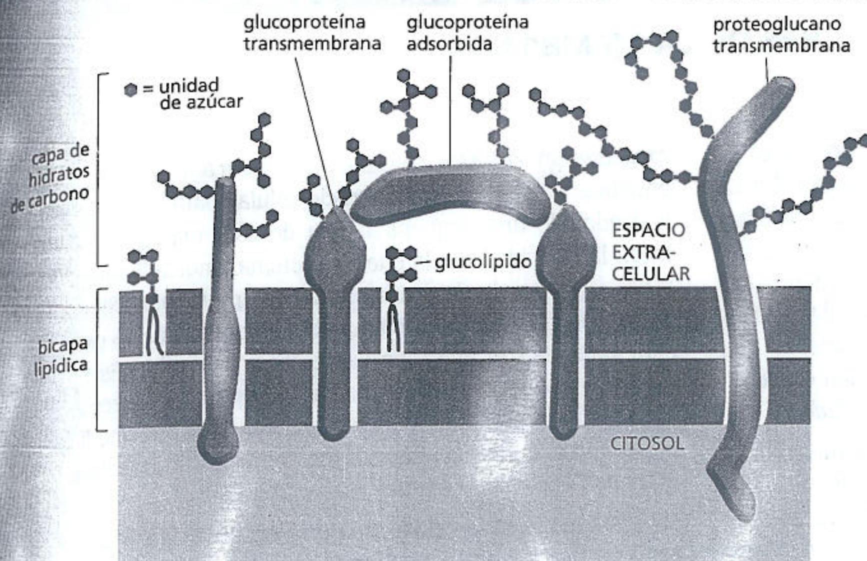


Figura 11-35. Las células eucariontes están revestidas por azúcares. La capa de hidrato de carbono está formada por cadenas laterales de oligosacáridos unidas a glucolípidos y glucoproteínas de la membrana y por cadenas de polisacáridos sobre los proteoglucanos de membrana. Las glucoproteínas y los proteoglucanos que fueron secretados por la célula para luego ser readsorbidos sobre su superficie también pueden contribuir a la capa de hidrato de carbono. Obsérvese que todos los hidratos de carbono se localizan en la superficie externa (no citosólica) de la membrana plasmática.

célula en el sitio de unión con las células circundantes y sellan el espacio entre las membranas celulares vecinas (véase Fig. 20-23). Las proteínas de membrana no pueden difundir más allá de estas uniones.

La superficie de la célula está recubierta de hidratos de carbono

Ya hemos visto que muchos lípidos presentes en la capa externa de la membrana plasmática de las células eucariontes se asocian con azúcares unidos mediante enlaces covalentes. Esta asociación también se observa en la mayoría de las proteínas de la membrana plasmática. Casi todas estas proteínas están unidas a cadenas cortas de azúcares denominadas *oligosacáridos* y se designan con el nombre de *glucoproteínas*. Otras proteínas de membrana se unen a una o más cadenas largas de polisacáridos y se conocen con el nombre de *proteoglucanos*. Todos los hidratos de carbono presentes en las glucoproteínas, los proteoglucanos y los glucolípidos se ubican de un mismo lado de la membrana, el lado no citosólico, en donde forman una cubierta de azúcares denominada **capa de hidratos de carbono** (Fig. 11-35).

La capa de hidratos de carbono constituye una cubierta ubicada por encima de la bicapa lipídica que contribuye a proteger la superficie de la célula de agresiones mecánicas y químicas. Como los oligosacáridos y los polisacáridos de esta capa absorben agua, confieren a las células una superficie viscosa. Esta cubierta ayuda a que células móviles como los leucocitos puedan desplazarse a través de pasajes estrechos e impide que las células sanguíneas se adhieran entre sí o a las paredes de los vasos.

Sin embargo, los hidratos de carbono de la superficie celular no sólo cumplen la función de proteger y lubricar las células, sino que además desempeñan una función importante en los procesos de reconocimiento y adhesión entre las células. Así como muchas otras proteínas reconocen un lugar específico de otra proteína y se unen a él, algunas proteínas (llamadas *lectinas*) se especializan en reconocer cadenas laterales de oligosacáridos específicas y en unirse a ellas. Las cadenas laterales de oligosacáridos de las glucoproteínas y los glucolípidos son cortas (en general tienen menos de 15 unidades de azúcar), pero muy diversas. A diferencia de las cadenas de polipéptidos (proteínas), en las cuales los aminoácidos están unidos en una secuencia lineal mediante enlaces peptídicos idénticos (véase Fig. 11-22), los azúcares pueden unirse entre sí de diversas maneras y en diferentes secuencias y a menudo forman cadenas de oligosacáridos ramificadas (véase Lámina 2-3, pp. 68-69). Incluso tres grupos azúcares pueden unirse entre sí

MEDICIÓN DEL FLUJO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA

Una de las características esenciales de la bicapa lipídica es su fluidez. El flujo molecular confiere flexibilidad e integridad a las membranas biológicas y permite que las proteínas residentes fluctúen por la bicapa acoplándose y desacoplándose en interacciones moleculares que sustentan la vida celular. La naturaleza dinámica de las membranas celulares es una propiedad tan esencial para el funcionamiento apropiado de las membranas que nuestro modelo operativo de estructura de membrana en general se conoce con el nombre de *modelo de mosaico fluido.*

Dada la importancia de esta característica para la estructura y la función de las membranas, ¿cuáles serían los métodos posibles para medir y estudiar la fluidez de las membranas celulares? Los métodos utilizados con mayor frecuencia son visuales y consisten sencillamente en marcar algunas de las moléculas nativas de la bicapa para luego seguir sus movimientos. Este enfoque fue el primero en demostrar la difusión de proteínas de membrana unidas a anticuerpos marcados (véase Fig. 11-32). Sin embargo, este trabajo experimental dejó la impresión de que las proteínas de membrana flotaban libremente y sin restricciones en un mar de lípidos. En la actualidad se sabe que esta impresión no es totalmente correcta. Para poder estudiar la dinámica de la membrana con mayor detalle fue necesario desarrollar técnicas más precisas que permitieran seguir el desplazamiento de las proteínas en el interior de una membrana como la membrana plasmática de una célula viva.

Técnica FRAP

Una de estas técnicas, conocida con el nombre de *recuperación de la fluorescencia después del blanqueamiento con láser* (*photobleaching*) *(FRAP)*, consiste en el marcado uniforme de las proteínas a través de la superficie celular para luego aclarar el marcador de una pequeña región de este mar fluorescente y medir la velocidad con la que las proteínas marcadas circundantes se desplazan hacia esa fracción de membrana sin fluorescencia. En un principio, la proteína de membrana que se va a evaluar se marca con un grupo fluorescente específico. Este procedimiento puede realizarse con un anticuerpo fluorescente o fusionando la proteína de membrana con una proteína fluorescente, como la proteína fluorescente verde (GFP), mediante técnicas de DNA recombinante (véase capítulo 10).

Una vez marcada la célula se coloca en un microscopio y una pequeña fracción de su membrana se irradia con un pulso intenso de rayo láser estrictamente focalizado. Este tratamiento blanquea en forma irreversible los grupos fluorescentes en un área de aproximadamente 1 μm² sobre la superficie celular (Fig. 11-36). Luego se mide el tiempo necesario para que las proteínas fluorescentes migren desde las áreas vecinas hacia la región de la membrana en la que desapareció la fluorescencia. La velocidad de la "recuperación de la fluorescencia" es un indicador directo de la velocidad con la que las proteínas circundantes pueden difundir en el interior de la membrana (Película 11.5). Estos trabajos de experimentación muestran que, desde una perspectiva general, la viscosidad de la membrana celular es similar a la del aceite de oliva.

Una por una

Una de las limitaciones de la técnica FRAP consiste en el hecho de que este procedimiento permite seguir el desplazamiento de

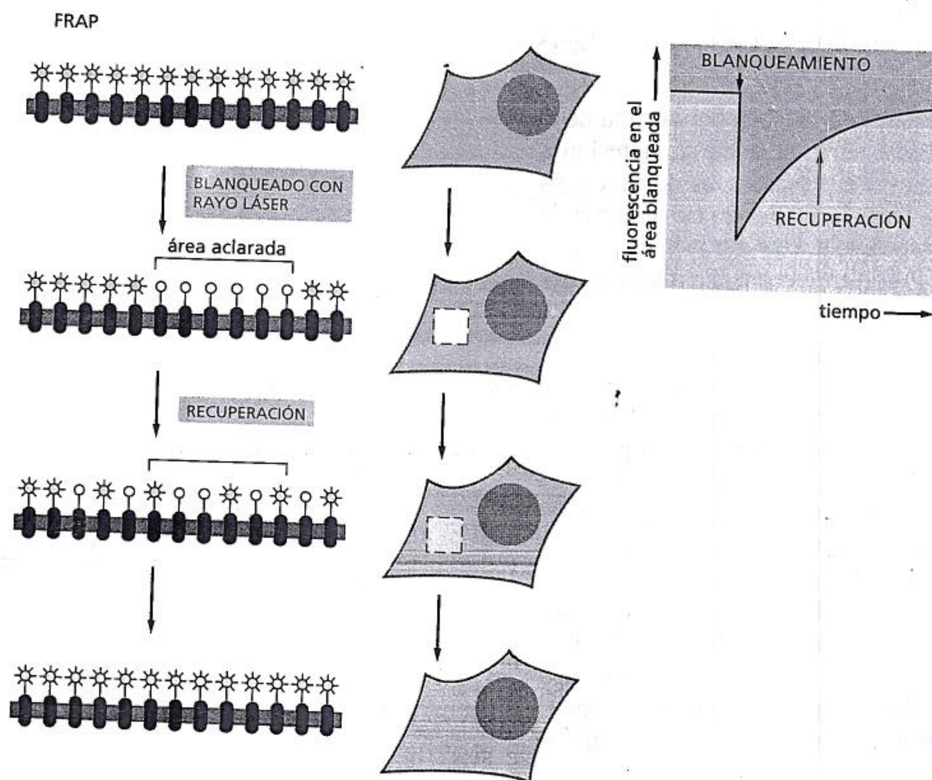


Figura 11-36. Puede recurrirse a técnicas de blanqueamiento con láser para medir la velocidad de difusión lateral de una proteína de membrana. La proteína específica que se va a evaluar puede marcarse con un anticuerpo fluorescente (como se ilustra en la figura) o puede expresarse por la fusión con una proteína fluorescente verde (GFP), que posee fluorescencia intrínseca. La técnica FRAP se basa en el blanqueamiento de la fluorescencia en una pequeña fracción de la membrana mediante un rayo láser. La fluorescencia se recupera a medida que las moléculas aclaradas se alejan por difusión y las moléculas fluorescentes se difunden hacia el área irradiada (en la figura se ilustra en las vistas superior y lateral; la fluorescencia se recuperó un 50%). El coeficiente de difusión se calcula a partir de un gráfico de la velocidad de recuperación: cuanto mayor sea el coeficiente de difusión de la proteína de membrana más rápida será la recuperación.

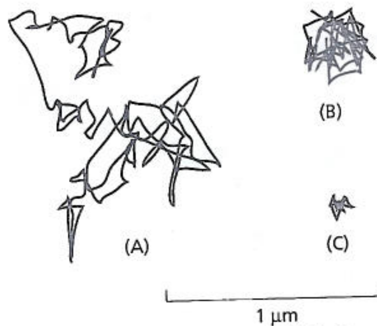


Figura 11-37. Las proteínas muestran distintos patrones de movimiento. Los estudios de seguimiento de partículas aisladas revelan algunas de las vías que siguen las proteínas reales en la superficie de una célula viva. La figura ilustra algunas de las trayectorias representativas de distintos tipos de proteínas en la membrana plasmática. (A). Trayectoria seguida por una proteína que difunde libremente en forma aleatoria alrededor de la membrana plasmática. (B). Trayectoria seguida por una proteína confinada por otras proteínas o anclada a otras proteínas de la membrana plasmática. (C). Trayectoria de una proteína que está anclada al citoesqueleto y que por esto es esencialmente inmóvil. El movimiento de las proteínas es seguido durante algunos segundos.

una población relativamente importante de proteínas (cientos a miles) a través de áreas de membrana extensas, pero no permite determinar la actividad de las moléculas individuales. Por ejemplo, si una proteína no migra hacia el interior de la zona en la que se aclaró el colorante durante el procedimiento no es posible saber con certeza si ello se debe a que la molécula carece de motilidad y se encuentra anclada en un sitio de la membrana o si su inmovilidad aparente se debe a la restricción de su desplazamiento dentro de una región muy pequeña limitada por proteínas del citoesqueleto.

A fin de resolver este problema los investigadores desarrollaron métodos para marcar y seguir el movimiento de moléculas individuales o pequeños grupos de moléculas. Una de estas técnicas, designada con el nombre de *microscopia de seguimiento de partículas aisladas* (SPT), se basa en el marcado de moléculas proteicas con anticuerpos revestidos de partículas de oro. Las esferas de oro se aprecian como puntos negros diminutos con el microscopio y las técnicas videomicroscópicas permiten seguir su movimiento, lo que equivale a seguir el movimiento de las proteínas marcadas.

Los resultados de los estudios realizados indican que las proteínas de membrana pueden asociarse con diversos patrones de movimiento que varían entre la difusión aleatoria y la inmovilidad completa (Fig. 11-37). Algunas proteínas muestran combinaciones de estos distintos patrones de movimiento.

Sin células

En última instancia, los investigadores a menudo desean estudiar el comportamiento de una proteína particular en ausencia de moléculas que puedan interferir en su movimiento o su actividad. Con esta finalidad, las proteínas de membrana pueden eliminarse de las células y reconstituirse en vesículas de fosfolípidos artificiales (Fig. 11-38). Los lípidos posibilitan que las proteínas aisladas mantengan su estructura y la purificación de estas proteínas permite analizar con detalles su actividad y su comportamiento.

Estos estudios indican claramente que las proteínas de membrana difunden con mayor libertad y rapidez en bicapas lipídicas artificiales que en las membranas celulares. La limitación del movimiento de las proteínas de la membrana celular es un hallazgo lógico si se considera que estas membranas contienen una gran cantidad de proteínas y su variedad de lípidos es mayor que la de una bicapa lipídica artificial. Además, muchas proteínas de membrana están unidas a proteínas de la matriz extracelular, ancladas a elementos citoesqueléticos localizados inmediatamente debajo de la membrana plasmática o fijadas a ambas estructuras (como se ilustra en la figura 11-33).

Considerados en su conjunto, estos estudios del movimiento de moléculas a lo largo de la bicapa lipídica aportan información acerca de la arquitectura y la organización de la membrana celular, lo que permite obtener una idea más precisa de la membrana como un mosaico fluido dinámico.

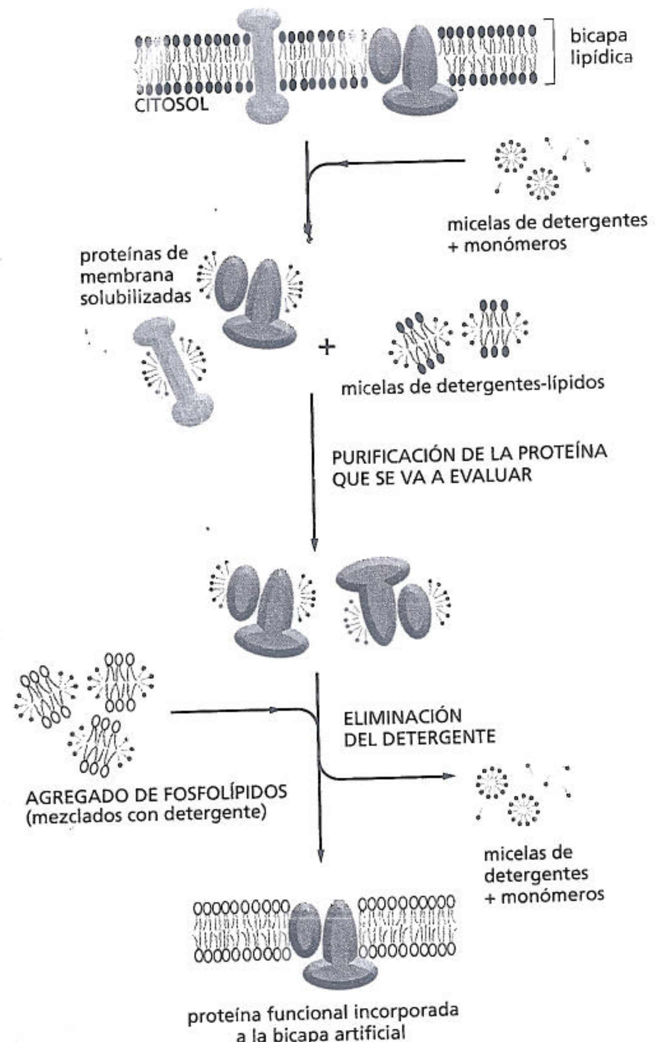


Figura 11-38. Pueden utilizarse detergentes suaves para solubilizar y reconstituir las proteínas de membrana funcionales.

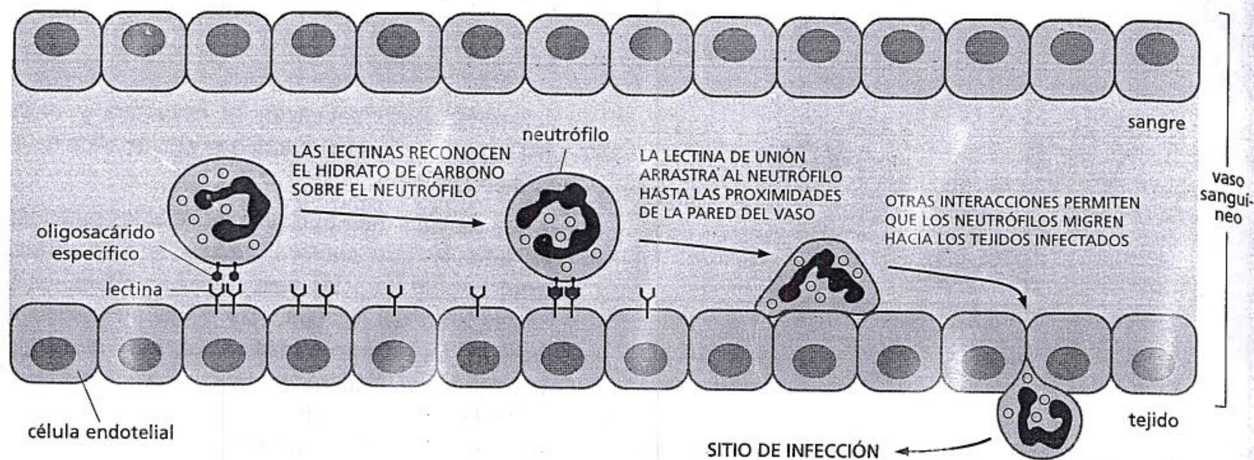


Figura 11-39. El reconocimiento del hidrato de carbono que reviste la superficie celular de los neutrófilos es el primer paso de la migración de estas células desde la circulación hacia los sitios de infección. Las células que revisten los vasos sanguíneos (llamadas células endoteliales) sintetizan proteínas transmembrana especializadas (denominadas lectinas) en respuesta a señales químicas provenientes del sitio de infección. Estas proteínas reconocen grupos particulares de azúcares presentes en los glucolípidos y las glucoproteínas de la superficie de los neutrófilos circulantes. La consecuencia de este proceso es la adherencia de los neutrófilos a la pared vascular. Esta asociación no es muy fuerte, pero conduce a otra interacción entre proteínas mucho más firme (no ilustrada en la figura) que promueve la migración de los neutrófilos desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos infectados a través de los intersticios de las células endoteliales (Película 11.6).

mediante una cantidad de enlaces covalentes suficiente para formar cientos de trisacáridos distintos.

En un organismo pluricelular, la capa de hidratos de carbono puede compararse con un uniforme distintivo (análogo al uniforme utilizado por la policía) que caracteriza a las células especializadas en una función determinada y es reconocida por otras células con las que interactúan. Por ejemplo, algunos oligosacáridos específicos de la capa de hidrato de carbono ayudan al reconocimiento del óvulo por el espermatozoide (véase capítulo 19). Estos compuestos también participan en respuestas frente a infecciones. Por ejemplo, en los estadios tempranos de una infección bacteriana los hidratos de carbono que están en la superficie de los leucocitos denominados *neutrófilos* son reconocidos por una lectina presente en la superficie de las células que revisten los vasos sanguíneos en el sitio de la infección.

Este proceso de reconocimiento determina que los neutrófilos se adhieran a la pared de los vasos sanguíneos para después migrar desde el torrente sanguíneo y dirigirse hacia los tejidos infectados, en donde ayudan a erradicar las bacterias invasoras (**Fig. 11-39**).

Las glucoproteínas son miembros importantes de la familia de proteínas transmembrana. En el próximo capítulo examinaremos las funciones específicas de las proteínas transmembrana que transportan moléculas hacia el interior y el exterior de las células.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las membranas celulares permiten que las células creen barreras que confinan determinadas moléculas en compartimientos específicos.
- Las membranas celulares están formadas por una doble capa o bicapa continua de moléculas lipídicas entremezcladas con proteínas.
- La bicapa lipídica provee la estructura fundamental y la función de barrera en todas las membranas celulares.
- Las moléculas lipídicas de las membranas poseen regiones hidrófobas e hidrófilas. Éstas se ensamblan de modo espontáneo cuando se las coloca en un medio acuoso para formar compartimientos cerrados que se vuelven a sellar en caso de rotura.

- Existen tres clases principales de moléculas lipídicas de membrana: fosfolípidos, esteroles y glucolípidos.
- La bicapa lipídica es fluida y las moléculas lipídicas individuales pueden desplazarse libremente dentro de su propia monocapa pero no pueden hacerlo de manera espontánea de una monocapa a la otra.
- Ambas capas de la bicapa lipídica poseen una composición lipídica distinta y este fenómeno refleja las diferentes funciones de ambas caras de una membrana celular.
- Algunas células ajustan la fluidez de la membrana mediante la modificación de su composición lipídica.
- Las proteínas de membrana son responsables de la mayor parte de las funciones desempeñadas por la membrana celular, entre ellas el transporte de pequeñas moléculas hidrosolubles a través de la bicapa lipídica.
- Las proteínas transmembrana se extienden a través de todo el espesor de la bicapa lipídica, por lo general en la forma de una o más hélices α, pero a veces lo hacen en la forma de una lámina β plegada en forma de barril.
- Otras proteínas de membrana no se extienden a través de todo el espesor de la bicapa lipídica sino que se unen a uno de los lados de la membrana mediante enlaces covalentes con otras proteínas de membrana o enlaces covalentes con lípidos.
- Casi todas las membranas celulares están sostenidas por una red de proteínas adheridas a ellas. La malla de proteínas fibrosas que forma la corteza celular debajo de la membrana plasmática es un ejemplo de ello.
- Aunque numerosas proteínas de membrana pueden difundirse con rapidez en el plano de la membrana, las células cuentan con diversas formas de confinar ciertas proteínas en dominios de membrana específicos e inmovilizarlas mediante su adherencia a macromoléculas intracelulares o extracelulares.
- Muchas de las proteínas y algunos de los lípidos expuestos en la superficie de las células poseen cadenas de azúcares unidos que contribuyen a proteger y lubricar la superficie celular y participan en el proceso de reconocimiento entre las células.

PALABRAS CLAVE

anfipático	fosfatidilcolina
bacteriorrodopsina	fosfolípido
bicapa lipídica	insaturado
capa de hidrato de carbono	membrana plasmática
colesterol	proteína de membrana
detergente	saturado
dominio de membrana	

PREGUNTAS

PREGUNTA 11-8

Describa las distintas maneras que utilizan las células para confinar proteínas en regiones específicas de la membrana plasmática. ¿Es fluida una membrana con numerosas proteínas ancladas en ella?

PREGUNTA 11-9

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Explique sus respuestas.

A. Los lípidos de una bicapa lipídica rotan rápidamente alrededor de su eje mayor.

B. Los lípidos de una bicapa lipídica intercambian rápidamente posiciones entre sí en el plano de la membrana.

C. Los lípidos de una bicapa lipídica no pasan con facilidad de una monocapa lipídica a la otra.

D. Los enlaces hidrogenados que se forman entre los grupos de las cabezas lipídicas y las moléculas de agua se rompen y reconstituyen en forma continua.

E. Los glucolípidos se desplazan a través de distintos compartimientos limitados por membrana durante su síntesis, pero luego permanecen confinados en uno de los lados de la bicapa lipídica.

F. La margarina contiene una mayor cantidad de lípidos saturados que el aceite vegetal que le da origen.

G. Algunas proteínas de membrana son enzimas.

H. La cubierta hidrocarbonada que rodea a todas las células se denomina capa de hidrato de carbono y confiere mayor viscosidad a las células.

PREGUNTA 11-10

¿Qué significa el término "fluido bidimensional"?

PREGUNTA 11-11

La estructura de una bicapa lipídica está determinada por las propiedades singulares de sus moléculas lipídicas. Qué sucedería si:

A. ¿los fosfolípidos tuvieran sólo una cadena hidrocarbonada en lugar de dos?,

B. ¿las cadenas hidrocarbonadas fueran más cortas que lo normal, por ejemplo, de 10 átomos de carbono?,

C. ¿todas las cadenas hidrocarbonadas fueran saturadas?,

D. ¿todas las cadenas hidrocarbonadas fueran insaturadas?,

E. ¿la bicapa lipídica contuviera una mezcla de dos clases de moléculas lipídicas, una con dos colas hidrocarbonadas saturadas y la otra con dos colas hidrocarbonadas insaturadas?,

F. ¿cada una de las moléculas lipídicas estuviera unida mediante un enlace covalente a través del átomo de carbono terminal de una de sus cadenas hidrocarbonadas con una molécula lipídica de la otra monocapa?

PREGUNTA 11-12

¿Qué diferencias existen entre una molécula lipídica y una molécula de detergente? ¿Qué cambios debería experimentar la estructura de una molécula lipídica para convertirse en una molécula de detergente?

PREGUNTA 11-13

A. Las moléculas lipídicas intercambian posiciones con los lípidos circundantes cada 10^{-7} segundos. Una molécula de lípido tarda alrededor de 1 segundo para difundir desde un extremo al otro de una célula bacteriana de 2 μm de longitud. ¿Existe compatibilidad entre estos valores suponiendo que el diámetro de una cabeza lipídica sea de 0,5 nm? En caso de que no exista concordancia, ¿puede ofrecer una razón que explique la discrepancia?

B. Para tener una idea de la gran velocidad de los desplazamientos moleculares suponga que el grupo de una cabeza lipídica posee un diámetro similar al de una pelota de ping-pong (4 cm) y que el piso de su sala de estar (de 6 m × 6 m) está cubierto por pelotas de ping-pong de pared a pared. Si dos pelotas vecinas intercambiaran posiciones una vez cada 10^{-7} segundos, ¿cuál sería su velocidad en kilómetros por hora y cuánto tardaría una pelota en desplazarse de un extremo al otro de la habitación?

PREGUNTA 11-14

¿Por qué la membrana de un eritrocito necesita proteínas?

PREGUNTA 11-15

Piense en una proteína transmembrana que forma un poro hidrófilo a través de la membrana plasmática de una célula eucarionte que permite que el Na^+ ingrese en la célula después de su activación mediante la unión a un ligando específico del lado extracelular. La proteína está compuesta por cinco subunidades transmembrana similares y cada una de estas subunidades contiene una hélice α que abarca el espesor de la membrana con cadenas laterales de aminoácidos hidrófilos en una superficie de la hélice y cadenas laterales de aminoácidos hidrófobos en la superficie opuesta. Considerando que la proteína actúa como un canal iónico, proponga un ordenamiento posible de las cinco hélices α que abarcan todo el espesor de la membrana.

PREGUNTA 11-16

En la membrana de los eritrocitos humanos la relación entre la masa de las proteínas (peso molecular promedio = 50.000 daltons), la masa de los fosfolípidos (peso molecular promedio = 800 daltons) y la masa del colesterol (peso molecular promedio = 386 daltons) es de alrededor de 2:1:1. En consecuencia, ¿cuántas moléculas de lípidos hay por cada molécula de proteína?

PREGUNTA 11-17

Dibuje un esquema que represente una vista de cerca de la aposición de dos membranas plasmáticas durante la fusión celular, como se muestra en la figura 11-32. Señale las proteínas de membrana en ambas células que fueron marcadas desde la parte externa por la unión con distintas moléculas de anticuerpos fluorescentes. Indique en el dibujo el destino de estos marcadores coloreados después de la fusión de la célula. ¿Permanecerán exclusivamente en el exterior de la célula híbrida (A) después de la fusión celular y (B) después de la mezcla de las proteínas de membrana que tiene lugar durante la incubación a 37°C? ¿El resultado del experimento sería distinto si la incubación se hiciera a 0°C?

PREGUNTA 11-18

Compare las fuerzas hidrófobas que mantienen una proteína de membrana en la bicapa lipídica con las que determinan que las proteínas se plieguen y formen una estructura tridimensional singular.

PREGUNTA 11-19

Indique cuál de los siguientes organismos probablemente posea un máximo porcentaje de fosfolípidos insaturados en sus membranas. Fundamente la respuesta.

A. Un pez antártico

B. La serpiente del desierto

C. El ser humano

D. El oso polar

E. Una bacteria termófila que vive en surtidores a 100 °C

PREGUNTA 11-20

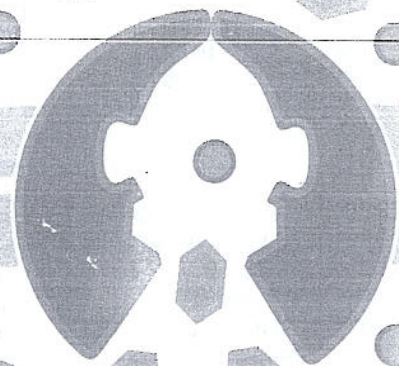
¿Cuál de las tres secuencias de aminoácidos enunciadas a continuación en el código de aminoácidos de letras únicas es la que tiene mayores probabilidades de formar una región transmembrana (hélice α) de una proteína transmembrana? Fundamente la respuesta.

A. I T L I Y F G N M S S V T Q T I L L I S

B. L L L I F F G V M A L V I V V I L L I A

C. L L K K F F R D M A A V H E T I L E E S





CAPÍTULO **DOCE**

12

Transporte de membrana

Las células viven y crecen mediante el intercambio de moléculas con el medio circundante y la membrana plasmática actúa como una barrera que controla el tránsito de moléculas hacia el interior y el exterior de la célula. Debido a que el interior de la bicapa lipídica es hidrófobo, como vimos en el capítulo 11, la membrana plasmática tiende a bloquear el pasaje de casi todas las moléculas hidrosolubles.

Sin embargo, es necesario que diversas moléculas hidrosolubles atraviesen la membrana plasmática porque la célula debe importar los azúcares y los aminoácidos, eliminar productos de desecho como el CO_2 y regular la concentración intracelular de una diversidad de iones orgánicos. Un pequeño subgrupo de estos solutos, como el CO_2 y el O_2, pueden difundir a través de la bicapa lipídica, pero la gran mayoría no posee esta capacidad y su transporte depende de **proteínas transportadoras de membrana** que se distribuyen a lo largo de todo el espesor de la membrana y forman canales a través de la bicapa lipídica que permiten el paso de determinadas sustancias (Fig. 12-1).

En este capítulo examinaremos los mecanismos mediante los cuales las membranas controlan el tránsito de pequeñas moléculas hacia el interior y el exterior de las células. Las células también poseen la capacidad de transportar selectivamente macromoléculas como las proteínas a través de sus membranas, pero este proceso requiere mecanismos más complejos, como se verá en el capítulo 15. Aquí comenzaremos por bosquejar algunos de los principios generales que gobiernan el paso de pequeñas moléculas hidrosolubles a través de la membrana celular. Luego examinaremos los dos tipos principales de proteínas de membrana que median este proceso de transporte. Las *proteínas transportadoras* tienen partes móviles y son capaces de desplazar pequeñas moléculas de un lado a otro de la membrana mediante la modificación de su conformación. Estas proteínas pueden transportar pequeñas moléculas orgánicas o iones inorgánicos. Por el contrario, las *proteínas de canal* forman poros hidrófilos diminutos en la membrana a través de los cuales pueden pasar los solutos por un proceso de difusión. La mayoría de las proteínas de canal sólo permiten el paso de iones inorgánicos y por este motivo se denominan *canales iónicos*. Dado que estos iones poseen carga eléctrica, sus movimientos pueden generar fuerzas eléctricas de gran magnitud a través de la membrana.

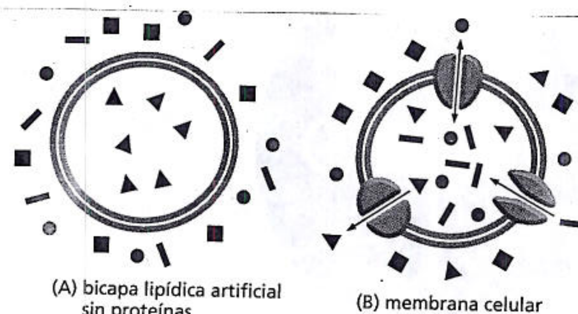


Figura 12-1. Las proteínas especializadas en el transporte de membrana son responsables de transferir pequeñas moléculas hidrosolubles a través de las membranas celulares. Las bicapas lipídicas artificiales libres de proteínas son impermeables a la mayor parte de las moléculas hidrosolubles (A), las membranas celulares no lo son (B). Obsérvese que cada tipo de proteína de transporte en una membrana celular transfiere un tipo particular de molécula, lo que determina que el interior del compartimiento limitado por una membrana sea ocupado por un conjunto selectivo de solutos.

En la parte final del capítulo examinaremos de qué forma estas fuerzas permiten la comunicación entre las células nerviosas y, en última instancia, el desarrollo del sorprendente espectro de conductas asociado con el cerebro humano.

PRINCIPIOS DEL TRANSPORTE DE MEMBRANA

Como base de la explicación del transporte de membrana consideraremos, en primer lugar, las diferencias de composición iónica entre el interior de una célula y el medio que la rodea. Estos conceptos permitirán comprender mejor por qué el transporte de iones mediante las proteínas transportadoras y los canales iónicos reviste tanta importancia para las células.

Las concentraciones de iones en el interior de una célula son muy diferentes de las presentes en el exterior de la célula

Las células vivas mantienen una composición iónica interna muy diferente de la del medio que las rodea y esta diferencia es fundamental para la supervivencia y la función celulares. Los iones inorgánicos, como el Na^+, el K^+, el Ca^{2+}, el Cl^- y el H^+ (protones) son los solutos más abundantes del entorno celular y sus desplazamientos a través de las membranas celulares desempeñan un función central en numerosos procesos biológicos, entre los que figuran la actividad de las células nerviosas, como se verá luego, y la producción de ATP por todas las células, como se explicará en el capítulo 14.

El Na^+ es el ión con carga positiva (catión) más abundante en el exterior de las células, mientras que el K^+ es el ión más abundante en el interior (**Cuadro 12-1**). Para que una célula no sea destruida por las fuerzas eléctricas es necesario que la cantidad de cargas positivas presente en su interior se equilibre con una cantidad casi idéntica de cargas negativas, afirmación que también es válida para el medio circundante. No obstante, existen pequeñas diferencias entre las cargas negativas

CUADRO 12-1 COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE IONES EN EL INTERIOR Y EL EXTERIOR DE UNA CÉLULA DE MAMÍFERO TÍPICA

COMPONENTE	CONCENTRACIÓN INTRACELULAR (mM)	CONCENTRACIÓN EXTRACELULAR (mM)
Cationes		
Na^+	5-15	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	0,5	1-2
Ca^{2+}	10 × 4	1-2
H^+	7×10^{-5} ($10^{-7,2}$ M o pH 7,2)	4×10^{-5} ($10^{-7,4}$ M o pH 7,4)
Aniones*		
Cl^-	5-15	110

*La célula debe contener la misma cantidad de cargas positivas que de cargas negativas (es decir, debe ser eléctricamente neutra). Por lo tanto, además de Cl^-, la célula contiene muchos otros aniones no enumerados en este cuadro; en realidad, la mayoría de los componentes celulares poseen una carga negativa (HCO_3^-, PO_4^{3-}, proteínas, ácidos nucleicos, metabolitos portadores de grupos fosfato y carboxilo, etc.). Las concentraciones de Ca^{2+} y Mg^{2+} mencionadas corresponden a los iones libres. Las células contienen un total de aproximadamente 20 mM de Mg^{2+} y 1-2 mM de Ca^{2+}, pero la mayor parte de estos cationes están unidos a proteínas y otras sustancias y, en el caso del Ca^{2+}, almacenados en el interior de diversos orgánulos.

y positivas en la vecindad de la membrana plasmática que, como se verá después, ejercen efectos eléctricos importantes. La concentración elevada de Na^+ en el exterior de la célula se equilibra con el Cl^- extracelular. La concentración elevada de K^+ en el interior de la célula se equilibra con varios iones de carga negativa (aniones) intracelulares.

Esta distribución desigual de los iones en el interior y el exterior de las células es controlada, en parte, por la actividad de las proteínas de transporte de membrana y, en parte, por las características de permeabilidad de la bicapa lipídica propiamente dicha.

Las bicapas lipídicas son impermeables a los solutos y a los iones

El interior hidrófobo de la bicapa lipídica crea una barrera para el paso de la mayoría de las moléculas hidrófilas, incluidos los iones. Estas moléculas son tan reluctantes a ingresar en un medio graso como las moléculas hidrófobas lo son a ingresar en un medio acuoso. De todos modos, si transcurre un tiempo suficiente prácticamente cualquier molécula se difundirá a través de una bicapa lipídica. Sin embargo, la *velocidad* de este proceso varía en forma notable según el tamaño y las características de solubilidad de la molécula. En general, cuanto menor sea el tamaño de la molécula y mayor sea la solubilidad en aceite –es decir, cuanto más hidrófoba o no polar sea– mayor será su velocidad de difusión a través de la membrana. Por lo tanto:

1. *Las moléculas no polares pequeñas*, como el oxígeno molecular (O_2, masa molecular = 32 daltons) y el dióxido de carbono (44 daltons), se disuelven con rapidez en la bicapa lipídica y, en consecuencia, difunden con facilidad a través de ella; en realidad, esta permeabilidad a los gases es una propiedad indispensable para los procesos de respiración celular descritos en el capítulo 14.
2. *Las moléculas polares sin carga* (moléculas con una distribución irregular de la carga eléctrica) también difunden con rapidez a través de una bicapa lipídica si su tamaño es lo suficientemente pequeño. El agua (18 daltons) y el etanol (46 daltons) atraviesan la membrana con relativa facilidad, el glicerol (92 daltons) difunde con menor facilidad y la glucosa (180 daltons) atraviesa la membrana con mucha lentitud o no puede hacerlo (**Fig. 12-2**).
3. Por el contrario, las bicapas lipídicas son muy impermeables a *todos los iones y moléculas cargadas* por más pequeñas que sean. La carga de las moléculas y la fuerte atracción eléctrica que ejercen sobre las moléculas de agua impiden que estos elementos ingresen en la fase hidrocarbonada de la bicapa. Así, las bicapas sintéticas son mil millones (10^9) de veces más permeables al agua que a los iones, aun cuando se trate de iones pequeños como el Na^+ o el K^+.

Las membranas celulares permiten el paso del agua y las moléculas no polares pequeñas mediante la difusión simple, pero para que las células puedan incorporar nutrientes y eliminar desechos es necesario que las membranas permitan el paso de muchas otras moléculas como iones, azúcares, aminoácidos, nucleótidos y diversos metabolitos celulares. Estas moléculas difunden a través de la bicapa lipídica con excesiva lentitud y por ese motivo requieren proteínas de transporte especializadas para poder atravesarla en forma eficaz.

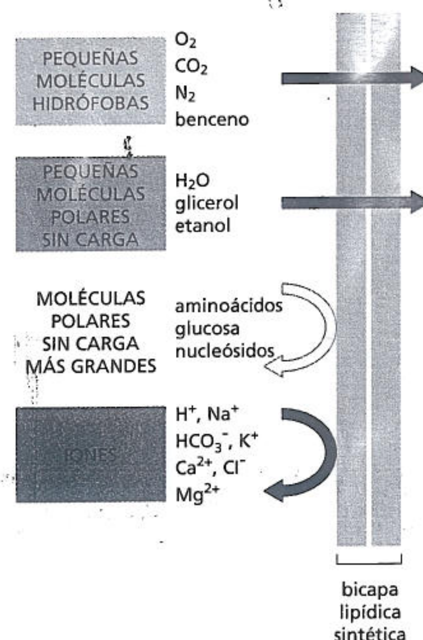


Figura 12- 2. La velocidad con la que una molécula difunde a través de una bicapa lipídica sintética depende de su tamaño y de su solubilidad. Cuanto más pequeña sea la molécula y, más importante aun, cuanto menor sea la cantidad de interacciones favorables entre la molécula y el agua (es decir, cuanto menos polar sea), mayor será la rapidez con la que difunde la molécula a través de la bicapa. Obsérvese que muchas de las moléculas que la célula utiliza como nutrientes son demasiado voluminosas y polares como para atravesar una bicapa lipídica pura.

Las proteínas de transporte de membrana pertenecen a dos clases: proteínas transportadoras y proteínas de canales

Las proteínas de transporte de membrana se encuentran presentes en muchas formas y en todos los tipos de membrana biológica. Cada proteína determina una vía de paso particular a través de la membrana para una clase determinada de molécula; por ejemplo, iones, azúcares o aminoácidos. La mayoría de estas vías pro-

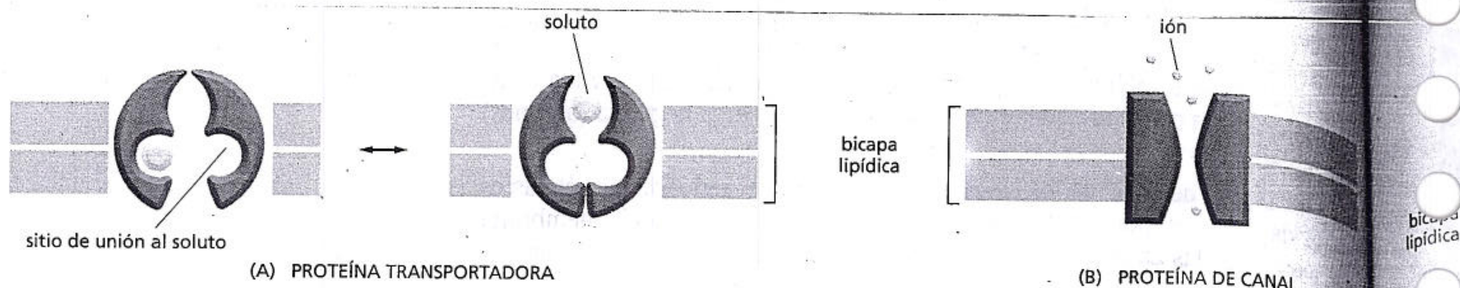


Figura 12-3. Las moléculas pequeñas pueden ingresar en la célula mediante una proteína transportadora o una de canal. (A) Una proteína transportadora experimenta una serie de alteraciones conformacionales con lo cual transfieren pequeñas moléculas hidrosolubles a través de la bicapa lipídica. (B) Por el contrario, una proteína de canal forma un poro hidrófilo a través de la bicapa por el que pueden difundir iones inorgánicos específicos. Como cabría esperar, las proteínas de canal transportan moléculas a mucha mayor velocidad que las proteínas transportadoras. Los canales iónicos pueden existir en las conformaciones abierta o cerrada, pero el transporte a través de ellos sólo tiene lugar en la conformación abierta, la que se ilustra en la figura. La apertura y el cierre del canal en general son controlados por un estímulo externo o por condiciones intracelulares.

teicas son aún más selectivas y sólo permiten el paso de ciertos miembros de una clase de moléculas dada; por ejemplo, algunas vías permiten el paso del Na^+ pero no del K^+ mientras que otras permiten el paso del K^+ pero no del Na^+. El conjunto de proteínas de transporte presente en la membrana plasmática o en la membrana de un orgánulo intracelular determina con precisión cuáles son los solutos que pueden ingresar o egresar. Por consiguiente, cada tipo de membrana posee un conjunto característico de proteínas de transporte.

Como se comentó en el capítulo 11, las proteínas de transporte de membrana estudiadas con mayor detalle poseen cadenas polipeptídicas que atraviesan numerosas veces la bicapa lipídica, es decir, son proteínas transmembrana multipaso (véase Fig. 11-24). Es posible que al cruzar repetidamente la bicapa lipídica la cadena polipeptídica determine la formación de una vía continua revestida de proteínas que permita que determinadas moléculas hidrófilas pequeñas atraviesen la membrana sin entrar en contacto directo con el interior hidrófobo de la bicapa lipídica.

Las proteínas de transporte de membrana pueden dividirse en dos clases principales: proteínas transportadoras y proteínas de canal. La diferencia fundamental entre las proteínas transportadoras y las de canal radica en la forma en la que discriminan los solutos para transportar algunos y no otros (Fig. 12-3). El mecanismo de discriminación de las proteínas de canal se basa sobre todo en el tamaño y la carga eléctrica de la molécula: si el canal está abierto, toda molécula lo suficientemente pequeña que posea la carga adecuada podrá pasar como si tratara de pasar a través de una puerta vaivén estrecha. Por otra parte, la proteína transportadora sólo permite el paso de solutos que encajen en un sitio de unión de la proteína y luego transfiere estas moléculas a través de la membrana de a una por vez, mediante cambios de su propia conformación; actúa más como un molinete que como una puerta. Las proteínas transportadoras fijan solutos con un grado alto de especificidad mediante un mecanismo comparable con el de la fijación de una enzima a su sustrato y la especificidad de esta fijación es lo que convierte al transporte en selectivo.

Los solutos atraviesan las membranas mediante transporte pasivo o transporte activo

Las proteínas transportadoras y las de canal permiten que las moléculas pequeñas atraviesen la membrana celular, pero cabe preguntarse cuáles son los factores que determinan que estos solutos pasen hacia el interior o el exterior de las células. La dirección del transporte depende en gran medida de la concentración relativa del soluto a ambos lados de la membrana. Las moléculas fluyen "cuesta abajo" desde un sitio de concentración alta hacia otro de concentración baja en forma espontánea, siempre que exista una vía que lo permita. Estos desplazamientos se consideran *pasivos* porque no requieren otra fuerza impulsora. Si, por ejemplo, un soluto se encuentra presente en mayor concentración en el exterior que en el interior de la célula y la membrana contiene una proteína de canal o una proteína transportadora apropiadas, el soluto se desplazará en forma espontánea a través de la membrana hacia el interior celular por transporte pasivo (proceso que también se conoce con el nombre de *difusión facilitada*) sin gasto de energía por parte de la proteína de transporte. Todas las proteínas de canal y numero-

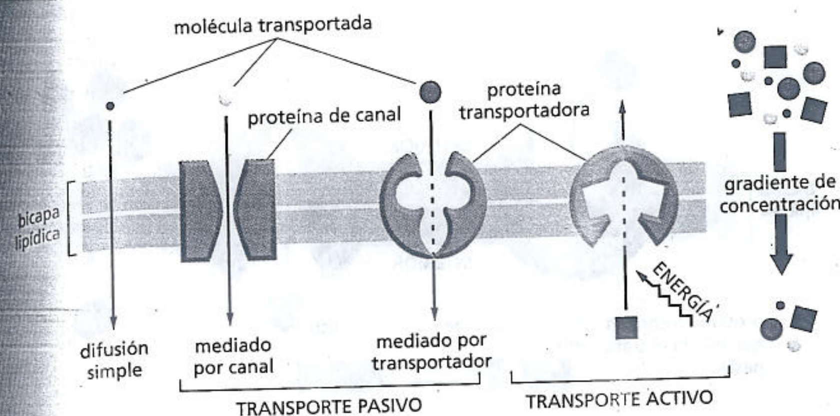


Figura 12-4. Los solutos atraviesan la membrana celular mediante procesos de transporte pasivo o transporte activo. Si los solutos sin carga son lo suficientemente pequeños pueden desplazarse a favor de su gradiente de concentración directamente a través de la bicapa lipídica por difusión simple. Sin embargo, la mayoría de los solutos solo pueden atravesar la membrana con la ayuda de una proteína de transporte de membrana (una proteína transportadora o una proteína de canal). Como se mencionó antes el transporte pasivo, es decir en dirección del gradiente de concentración, tiene lugar en forma espontánea, mientras que el transporte en contra de un gradiente de concentración (transporte activo) requiere un aporte de energía. El transporte activo sólo puede ser llevado a cabo por las proteínas transportadoras y el transporte pasivo puede ser mediado tanto por proteínas transportadoras como por proteínas de canal.

sas proteínas transportadoras pueden actuar como conductos que posibilitan este proceso de transporte pasivo.

Sin embargo, para desplazar un soluto en contra de un gradiente de concentración es necesario que la proteína de transporte realice un trabajo, dado que debe impulsar el flujo "cuesta arriba" recurriendo a otros procesos que aporten energía (como se comenta en el capítulo 3 para las reacciones enzimáticas). Este tipo de transferencia de solutos a través de la membrana se denomina transporte activo y sólo lo llevan a cabo tipos especiales de proteínas transportadoras capaces de aprovechar alguna fuente de energía para promover el proceso de transporte (Fig. 12-4). Dado que dirigen el transporte de solutos en contra de su gradiente de concentración, muchas de estas proteínas transportadoras se denominan *bombas*. A continuación analizaremos una diversidad de proteínas transportadoras y examinaremos la forma en la que transfieren moléculas a través de las membranas celulares.

PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS Y SUS FUNCIONES

Las proteínas transportadoras son necesarias para el transporte a través de las membranas celulares de casi todas las moléculas orgánicas pequeñas, con la excepción de las moléculas liposolubles y las moléculas pequeñas sin carga que pueden atravesar directamente la bicapa lipídica mediante difusión simple (véase Fig. 12-2). Cada proteína transportadora es muy selectiva y con frecuencia transporta un solo tipo de molécula. Cada membrana celular contiene un conjunto de proteínas transportadoras distinto que le es propio lo que le permite dirigir e impulsar el complejo tránsito de moléculas pequeñas hacia el interior y el exterior de las células y entre el citosol y los diversos orgánulos revestidos de membrana. Así, por ejemplo, la membrana plasmática contiene proteínas transportadoras que permiten el ingreso de nutrientes como azúcares, aminoácidos y nucleótidos; la membrana del lisosoma contienen una proteína transportadora de H^+ que acidifica el interior del lisosoma; y la membrana interna de las mitocondrias contiene proteínas transportadoras que permiten el ingreso de piruvato, que actúa como sustrato en la generación de ATP y lo exporta una vez sintetizado (Fig. 12-5).

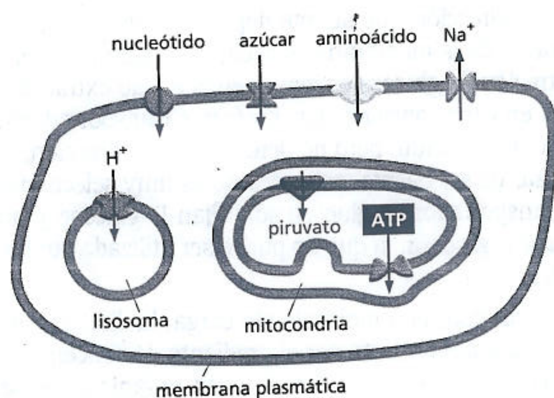


Figura 12-5. Cada membrana posee su propio conjunto característico de proteínas transportadoras.

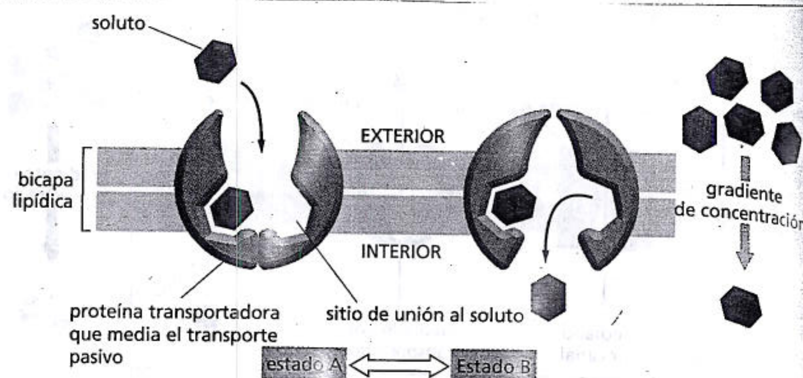


Figura 12-6. El transporte pasivo de un soluto, como la glucosa, puede ser mediado por un cambio conformacional de una proteína transportadora. En este modelo, la proteína transportadora puede existir en dos estados conformacionales: en el estado A los sitios de unión de solutos están expuestos del lado externo de la membrana; en el estado B los mismos sitios de unión están expuestos del lado opuesto de la membrana. Se propuso que la transición entre ambos estados es aleatoria, independiente de la unión del soluto y completamente reversible. Si la concentración del soluto es mayor del lado externo de la membrana, serán las transiciones A → B las que determinen su ingreso en la célula, más que las transiciones B → A, que determinan su egreso de la célula. Por consiguiente, tendrá lugar el transporte neto del soluto a favor de su gradiente de concentración.

Aunque sólo se conocen en detalle los mecanismos moleculares que subyacen en el movimiento de solutos para un subgrupo muy pequeño de proteínas transportadoras, están debidamente establecidos los principios generales que gobiernan la función de estas proteínas.

El transporte pasivo puede ser impulsado por gradientes de concentración y por fuerzas eléctricas

Los solutos pueden atravesar la membrana mediante el transporte pasivo o el transporte activo y las proteínas transportadoras pueden facilitar ambos tipos de procesos (véase Fig. 12-4). Un ejemplo sencillo de proteína transportadora capaz de mediar un proceso de transporte pasivo está representado por la *proteína transportadora de glucosa* presente en la membrana plasmática de las células hepáticas –y en muchos otros tipos celulares– de mamífero. Esta proteína está compuesta por una cadena proteica que atraviesa la membrana como mínimo 12 veces. Se piensa que la proteína puede adoptar al menos dos conformaciones y que puede pasar de una forma a la otra de manera reversible y aleatoria. En una de estas conformaciones el transportador expone sitios de unión de glucosa en la parte exterior de la célula; en la otra conformación lo hace hacia el interior de la célula (**Fig. 12-6**).

En presencia de abundante cantidad de glucosa en el exterior de las células hepáticas (p. ej., después de una comida) las moléculas de glucosa se fijan a los sitios de unión expuestos en la parte externa de las células; una vez que la proteína cambia de conformación, ésta transporta las moléculas de glucosa hacia el interior celular y las libera en el citosol, en donde la concentración de glucosa es reducida. A la inversa, en presencia de una glucemia reducida (p. ej., cuando una persona tiene hambre) la hormona glucagón estimula las células hepáticas a que produzcan una cantidad importante de glucosa mediante la degradación del glucógeno. La consecuencia de este proceso es una concentración de glucosa intracelular mayor que la concentración extracelular y la fijación de las moléculas de glucosa a los sitios de unión expuestos en la parte interna de la proteína transportadora; el cambio de conformación de la proteína transportadora permite el transporte de la glucosa hacia el exterior de las células. Por consiguiente, el flujo de glucosa es bidireccional y la dirección que adopte dependerá del gradiente de concentración de glucosa a través de la membrana es decir, se dirigirá hacia el interior de la célula si la concentración de glucosa es mayor en el medio extracelular y hacia el exterior de la célula en caso contrario. Las proteínas transportadoras de este tipo, que permiten el flujo de un soluto pero no determinan su dirección, facilitan el trasporte pasivo. A pesar de ser pasivo, este proceso es muy selectivo dado que los sitios de unión del transportador de glucosa sólo fijan D-glucosa y no, por ejemplo, su imagen especular L-glucosa, la que no puede ser utilizada por las células en el proceso de glucólisis.

PREGUNTA 12-1

Una reacción enzimática sencilla puede describirse mediante la ecuación E + S → ES → E + P, donde E es la enzima; S, el sustrato; P, el producto; y ES, el complejo enzima-sustrato.
A. Escriba una ecuación que describa el funcionamiento de una proteína transportadora (PT) que medie el transporte de un soluto (S) a favor de su gradiente de concentración.
B. ¿Qué indica esta ecuación sobre la función de la proteína transportadora?
C. ¿Por qué razón esta ecuación no es apropiada para describir la función de las proteínas de canal?

En el caso de la glucosa, una molécula sin carga, la dirección del transporte pasivo está determinada únicamente por el gradiente de concentración. En el caso de las moléculas con carga eléctrica, sean iones orgánicos de pequeño tamaño o

iones inorgánicos, se suma otra fuerza impulsora. Por motivos que explicaremos más adelante la mayoría de las membranas celulares poseen un voltaje a través de ellas, es decir una diferencia del potencial eléctrico entre ambos lados de la membrana que se conoce con el nombre de *potencial de membrana*. Esta diferencia de potencial ejerce una fuerza sobre cualquier molécula portadora de una carga eléctrica. El lado citoplasmático de la membrana, por lo general, presenta un potencial negativo en relación con el exterior y esta fuerza tiende a impulsar solutos de carga positiva hacia el interior de la célula y solutos de carga negativa hacia el medio extracelular. Simultáneamente, todo soluto con una carga eléctrica también tenderá a desplazarse en la dirección determinada por el gradiente de concentración.

En consecuencia, la fuerza neta que impulsa a un soluto cargado a través de la membrana es la resultante de dos fuerzas: una generada por el gradiente de concentración y otra generada por el voltaje a través de la membrana. Esta fuerza impulsora neta se denomina **gradiente electroquímico** de un soluto dado. Este gradiente determina la dirección del transporte pasivo a través de la membrana. Para algunos iones el voltaje y el gradiente de concentración actúan en la misma dirección y generan un gradiente electroquímico de magnitud relativamente elevada (Fig. 12-7A). Éste es el caso del Na^+, que posee una carga positiva y en una concentración mayor en el exterior que en el interior de las células. En consecuencia, el Na^+ tiende a ingresar en las células apenas se le presenta la oportunidad. Por otra parte, si los gradientes de voltaje y concentración ejercen efectos opuestos, el gradiente electroquímico resultante puede ser de escasa magnitud (Fig. 12-7B). Éste es el caso del K^+, un ión con carga positiva cuya concentración es mucho mayor en el interior que en el exterior de las células. Debido a estas fuerzas opuestas el gradiente electroquímico a través de la membrana para el K^+ es de baja magnitud a pesar del gradiente de concentración elevado, lo que implica que el desplazamiento neto de K^+ a través de la membrana también será de escasa magnitud.

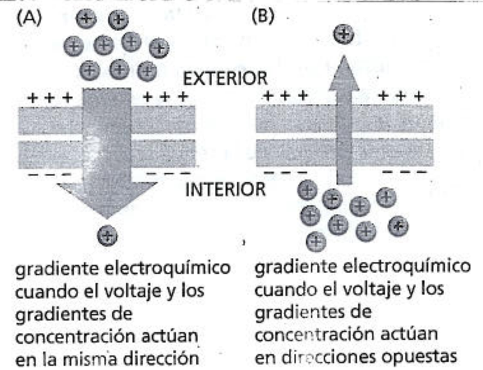


Figura 12-7. Un gradiente electroquímico tiene dos componentes. La fuerza impulsora neta (el gradiente electroquímico) que tiende a desplazar un soluto cargado (ión) a través de la membrana es la suma del gradiente de concentración del soluto y el voltaje a través de la membrana (el potencial de membrana, representado aquí por los signos + y – en la membrana). El ancho de la flecha verde representa la magnitud del gradiente electroquímico para el mismo soluto con carga positiva en dos situaciones diferentes. En (A) al gradiente de concentración se agrega un potencial de membrana que incrementa la fuerza impulsora. En (B) el potencial de membrana actúa en contra del gradiente de concentración y se reduce la fuerza impulsora generada por el desplazamiento del soluto.

El transporte activo moviliza solutos en contra de sus gradientes electroquímicos

Evidentemente las células no pueden depender solo del transporte pasivo. El transporte activo de solutos en contra del gradiente electroquímico es esencial para el mantenimiento de la composición iónica intracelular y para importar solutos que se encuentran en una menor concentración en el exterior que en el interior de las células. Existen tres mecanismos principales de transporte activo a través de la membrana celular (Fig. 12-8): los *transportadores acoplados* asocia el transporte "cuesta arriba" de un soluto con el transporte "cuesta abajo" de otro soluto, 2) las *bombas impulsadas por ATP* acoplan el transporte "cuesta arriba" de un soluto con la hidrólisis del ATP y 3) las *bombas impulsadas por la luz*, presentes sobre todo en las células bacterianas, acoplan el transporte "cuesta arriba" de un soluto con un impulso energético luminoso, como se comentó en el caso de la bacteriorrodopsina (véase Fig. 11-28).

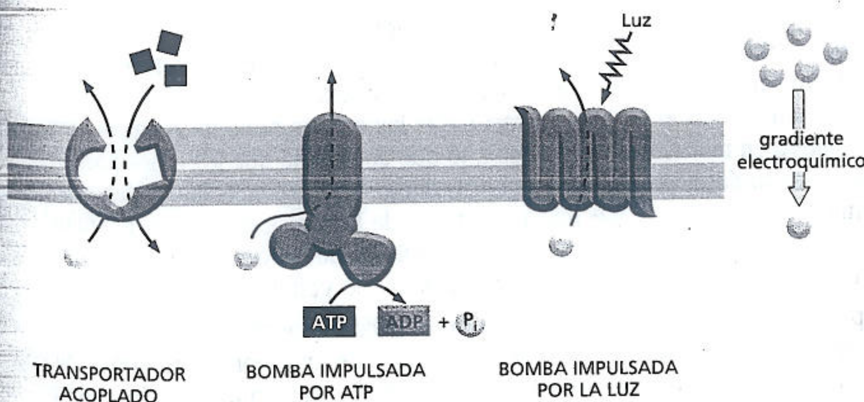


Figura 12-8. Las células dirigen el transporte activo de tres formas principales. La molécula transportada mediante un proceso activo se ilustra en amarillo y la fuente de energía en rojo.

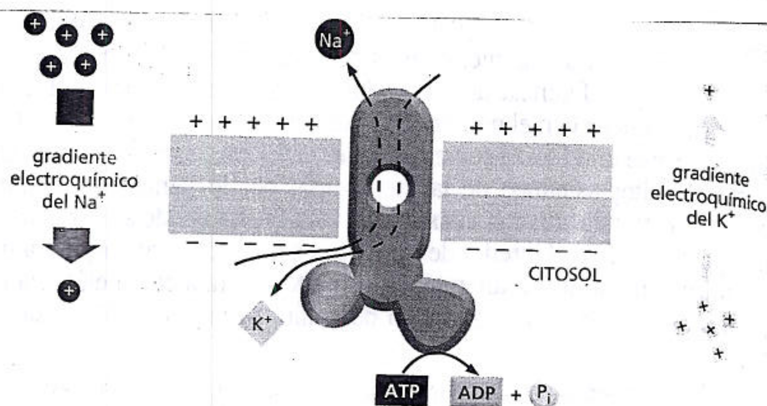


Figura 12-9. La bomba de Na^+-K^+ desempeña una función central en el transporte de membrana en las células animales. Esta proteína transportadora utiliza la energía derivada de la hidrólisis del ATP para bombear Na^+ hacia el exterior de la célula y K^+ hacia el interior, en ambos casos en contra de sus gradientes electroquímicos, si bien el gradiente electroquímico del K^+ es cercano a cero.

Dado que una sustancia debe ser transportada cuesta arriba antes de que pueda fluir cuesta abajo, las distintas formas de transporte activo están necesariamente interrelacionadas. Así, en la membrana plasmática de una célula animal una bomba impulsada por ATP transporta el Na^+ hacia el exterior de la célula en contra de su gradiente electroquímico y luego el Na^+ reingresa en la célula a favor de su gradiente. Dado que los iones Na^+ fluyen mediante transportadores acoplados al Na^+, el ingreso de Na^+ en el interior de la célula impulsa el pasaje activo de muchas otras sustancias hacia el interior celular en contra de sus respectivos gradientes electroquímicos. Si la bomba de Na^+ dejara de funcionar, el gradiente de Na^+ desaparecería en un lapso breve y el transporte por transportadores acoplados al Na^+ se interrumpiría. En consecuencia, la bomba de Na^+ impulsada por ATP es vital para el transporte de membrana en las células animales. En las células vegetales, los hongos y numerosas bacterias las bombas impulsadas por ATP desempeñan una función similar y generan un gradiente electroquímico para los iones H^+ mediante el bombeo de los iones H^+ (protones) hacia el exterior de la células, como se verá después.

Las células animales utilizan la energía derivada de la hidrólisis del ATP para bombear Na^+ hacia el exterior

En las células animales la bomba de Na^+ impulsada por ATP hidroliza el ATP formando ADP y transportando Na^+ hacia el medio extracelular; en consecuencia, esta bomba no sólo actúa como proteína transportadora sino también como enzima (ATPasa). Simultáneamente, la proteína acopla el transporte de Na^+ hacia el exterior de la células con un mecanismo de transporte de K^+ hacia el interior. Por ese motivo esta bomba se conoce con el nombre de Na^+-K^+ ATPasa o bomba de Na^+-K^+ (Fig. 12-9).

Esta proteína transportadora desempeña una función vital en la economía energética de las células animales, dado que normalmente representa el 30% o más del consumo total de ATP de estas células. Al igual que una bomba de achique en un barco que hace agua, la bomba de Na^+-K^+ funciona en forma ininterrumpida expulsando el Na^+ que ingresa en forma continua mediante otras proteínas transportadoras y otros canales iónicos. De esta manera, la bomba mantiene una concentración citosólica de Na^+ 10 a 30 veces menor que la concentración de Na^+ en el líquido extracelular y una concentración citosólica de K^+ alrededor de 10 a 30 veces mayor que la concentración extracelular (véase cuadro 12-1, p. 388). En condiciones normales el interior de casi todas las células tiene un potencial eléctrico negativo en relación con el exterior, lo que determina que los iones positivos tiendan a ser atraídos hacia el interior de la célula; en consecuencia, la fuerza electroquímica que impulsa el Na^+ hacia el interior de la célula es de gran magnitud, dado que incluye la fuerza generada por el gradiente de concentración y una fuerza de idéntica dirección generada por el gradiente de voltaje (véase Fig. 12-7A).

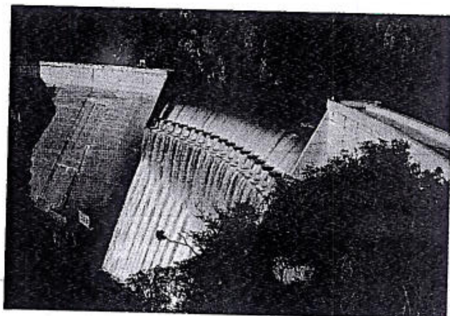


Figura 12-10. El Na^+ extracelular es como el agua detrás de una represa elevada. El agua de la represa contiene energía potencial que se puede utilizar para impulsar procesos que requieran energía. Asimismo, un gradiente iónico a través de una membrana se puede utilizar en el impulso de procesos activos en una célula, incluido el transporte activo de otras moléculas. La foto corresponde a la represa del río Blyde, en Sudáfrica. (Cortesía de Paul Franklin. Con autorización de Oxford Scientific Films).

En el punto más alto de su gradiente electroquímico el Na^+ del medio extracelular puede compararse con un volumen de agua detrás de una represa, es decir, constituye un depósito importante de energía (Fig. 12-10). Aun cuando se interrumpa

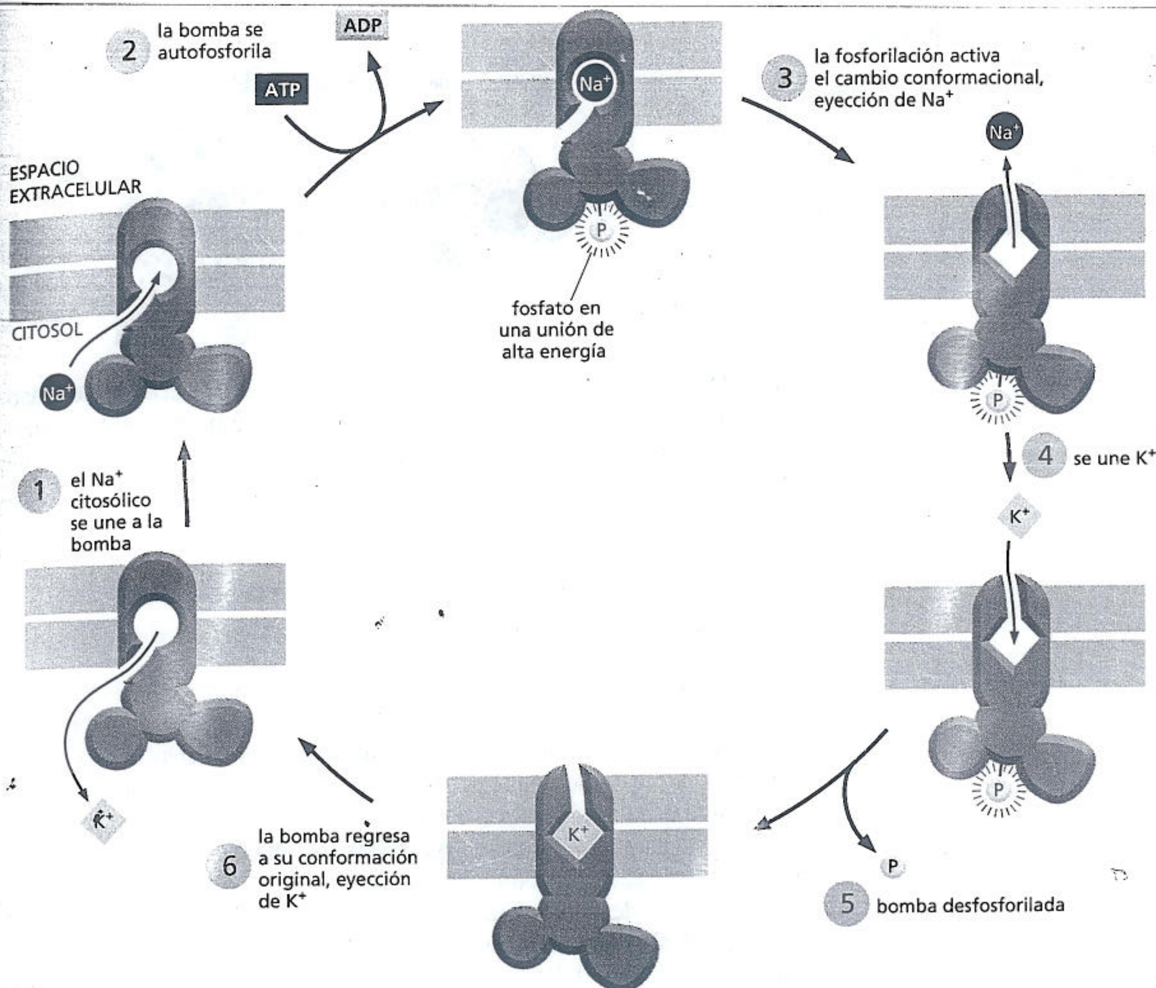


Figura 12-11. La bomba de Na+-K+ transporta iones en forma cíclica. La unión del Na+ citosólico (1) y la fosforilación ulterior por el ATP del lado citosólico de la bomba (2) determinan que la proteína experimente un cambio conformacional que transfiere Na+ a través de la membrana y lo libera en el medio extracelular (3). La unión de alta energía entre el fosfato y la proteína aporta la energía necesaria para que se produzca el cambio conformacional. La unión de K+ sobre la superficie extracelular (4) y la desfosforilación ulterior determinan que la proteína recupere su conformación original, lo que transfiere el K+ a través de la membrana y lo libera en el citosol (6). El ciclo se muestra en la Película 12.1. Estas modificaciones en la conformación son comparables con las transiciones A → B ilustradas en la figura 12-6, salvo que en este caso la fosforilación dependiente del Na+ y la desfosforilación dependiente del K+ de la proteína determinan que los cambios conformacionales se produzcan en forma ordenada y permiten que la proteína realice un trabajo útil. Para simplificar, sólo se muestran un sitio de unión para el Na+ y un sitio de unión para el K+. Se cree que en la bomba verdadera presente en las células de mamífero existirían tres sitios de unión para el Na+ y dos sitios de unión para el K+. Por consiguiente, el resultado neto de un ciclo de bombeo es el transporte de tres Na+ hacia el exterior de la célula y dos K+ hacia el medio intracelular. La ouabaína inhibe la bomba porque impide la unión del K+.

en forma artificial la acción de la bomba de Na+-K+ mediante el tratamiento con una toxina como la *ouabaína*, un glucósido vegetal, la energía presente en este depósito es suficiente para alimentar durante varios minutos los otros procesos de transporte impulsados por el flujo de Na+ cuesta abajo.

En el caso del K+ la situación es distinta. La fuerza impulsora eléctrica es la misma que para el Na+, dado que sólo depende de la carga que posee el ión. Sin embargo, el gradiente de concentración es de dirección opuesta. En condiciones normales el resultado final sería una fuerza impulsora neta del movimiento de K+ a través de la membrana cercana a cero, dado que la fuerza eléctrica que atrae K+ hacia el interior de la célula se equilibra casi totalmente por el gradiente de concentración que impulsa al K+ hacia el medio extracelular.

La bomba de Na+-K+ es impulsada por el agregado transitorio de un grupo fosfato

La bomba de Na+-K+ representa un excelente ejemplo de cómo una proteína acopla dos reacciones de acuerdo con los principios comentados en el capítulo 3. La bomba posee un funcionamiento cíclico, como se ilustra en la **figura 12-11**. El Na+ se fija a la bomba en sitios expuestos en el interior de la célula (paso 1) y este mecanismo activa la ATPasa. La hidrólisis del ATP determina la liberación de ADP y la transferencia de un grupo fosfato que forma un enlace de alta energía con la bomba propiamente dicha, es decir, la bomba se autofosforila (paso 2). La fosforilación determina que la bomba modifique su conformación y libere Na+ en la superficie exterior de la célula y, simultáneamente, exponga un sitio fijador del K+ en esa misma superficie (paso 3). La fijación del K+ extracelular desencadena la eliminación del grupo fosfato (desfosforilación, pasos 4 y 5), lo que determina que la bomba recupere su conformación inicial y descargue el K+ en el interior de la célula (paso 6). A continuación puede repetirse el ciclo, cuya duración total es de

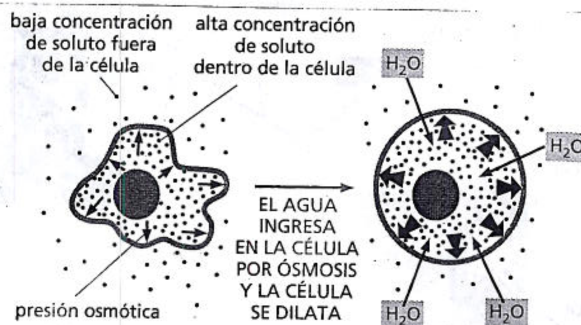


Figura 12-12. La difusión de agua se conoce con el nombre de ósmosis. Si la concentración de un soluto en el interior de la célula es mayor que en el exterior, el agua pasará al interior de la célula por ósmosis, lo que provoca que la célula se dilate. Sin embargo, si una célula se coloca en una solución con alta concentración de sales el agua saldrá (Película 12.2).

alrededor de 10 milisegundos. Cada paso de este ciclo depende del paso inmediatamente anterior, de modo que si se impide que se produzca cualquiera de estos pasos se interrumpirán todas las funciones de la bomba. Este acoplamiento fuerte garantiza que la bomba sólo funcione en presencia de iones apropiados disponibles para el transporte, lo que evita la hidrólisis inútil de ATP.

La bomba de Na^+-K^+ contribuye al mantenimiento del equilibrio osmótico de las células animales

Dado que la membrana plasmática es permeable al agua (véase Fig. 12-2), si la concentración total de solutos es reducida en uno de sus lados y elevada del lado opuesto el agua tiende a atravesarla equiparando ambas concentraciones. El desplazamiento del agua desde una región con baja concentración de soluto (alta concentración de agua) hacia una región con alta concentración de soluto (baja concentración de agua) se denomina ósmosis. Las células contienen en sus membranas canales de agua especializados (denominados *acuaporinas*), que facilitan este flujo. La fuerza que impulsa el desplazamiento del agua equivale a la diferencia de la presión del agua y se designa con el nombre de **presión osmótica**. En ausencia de otra presión que la contrarreste, el desplazamiento osmótico de agua hacia el interior de la célula la provocará la dilatación celular (**Fig. 12-12**).

En los tejidos animales las células están bañadas por un líquido con abundante contenido de solutos, sobre todo Na^+ y Cl^-. Este fenómeno equilibra la concentración de solutos orgánicos e inorgánicos confinados en el interior de la célula y evita una catástrofe osmótica. No obstante, el equilibrio osmótico está sujeto a una amenaza permanente, dado que los solutos externos fugan continuamente hacia el interior de las células en respuesta a sus respectivos gradientes electroquímicos. En consecuencia, las células deben realizar un trabajo incesante para bombear solutos indeseables hacia el exterior y mantener el equilibrio osmótico (**Fig. 12-13A**). Esta función depende sobre todo de la bomba de Na^+-K^+, que expulsa de la célula el Na^+ que se fuga hacia el interior. Al mismo tiempo, la bomba de Na^+-K^+ contribuye a mantener el potencial de membrana, como se verá después. Este potencial de membrana tiende a evitar el ingreso del Cl^-, que posee una carga negativa, y necesitaría desplazarse en contra del gradiente eléctrico generado por la bomba para ingresar a la célula.

Hay células que manejan sus problemas osmóticos de distinta manera. Las células vegetales no se dilatan porque tienen una pared celular resistente que les permite tolerar una importante diferencia osmótica a través de la membrana plasmática (Fig.

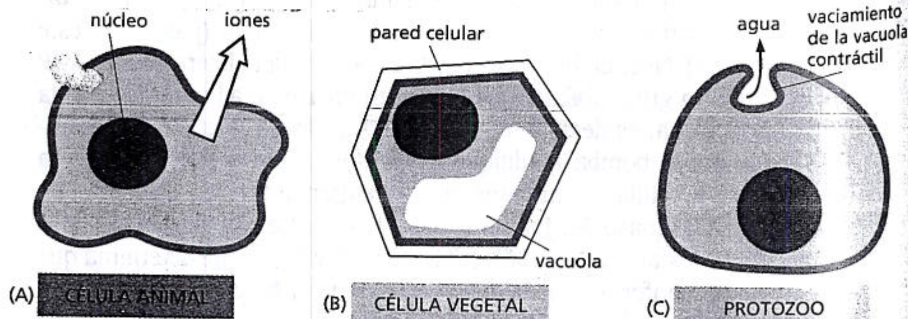


Figura 12-13. Las células utilizan diferentes estrategias que evitan la dilatación osmótica. Las células animales mantienen una concentración intracelular de solutos reducida mediante el bombeo de iones hacia el exterior (A). En las células vegetales el riesgo de dilatación y estallido es minimizado por la presencia de una pared celular gruesa (B). Los protozoos evitan la dilatación mediante la eyección periódica del agua que ingresa en la célula (C).

12-13B). La pared celular ejerce una presión de signo opuesto que contrarresta y tiende a equilibrar la presión osmótica generada por los solutos en el interior de la célula y de este modo limita el pasaje de agua hacia el medio intracelular. La ósmosis, junto con el transporte activo de iones hacia el interior de la célula, determina una *presión de turgencia* que mantiene a las células vegetales distendidas con agua y con la pared tensa. Por consiguiente, las células vegetales pueden compararse con balones de fútbol cuya cubierta externa de cuero se mantiene tensa por la presión acumulada en la bolsa de goma interna; la pared celular actúa como la cubierta de cuero externa y la membrana plasmática sería la bolsa interna de goma. La presión de turgencia cumple las funciones de mantener el tallo de la planta rígido y las hojas extendidas. También participa en la regulación del intercambio gaseoso a través de los estomas, es decir las "bocas" microscópicas en la superficie de una planta; estos poros son abiertos y cerrados por las células oclusivas que los rodean (**Fig. 12-14**). Las células oclusivas controlan su propia presión de turgencia mediante la regulación del movimiento de K^+ a través de sus membranas plasmáticas.

En algunos protozoos de agua dulce, como las amebas, el exceso de agua que fluye continuamente hacia el interior de la célula por ósmosis es recolectado en vacuolas contráctiles que descargan su contenido en el medio extracelular en forma periódica (Fig. 12-13C). En primer término, la célula permite que la vacuola se llene de una solución con abundante contenido de solutos, lo que determina el arrastre ulterior de agua por ósmosis, y en segundo término recupera los solutos mediante un proceso de bombeo activo hacia el citosol antes de que la vacuola se vacíe en el exterior.

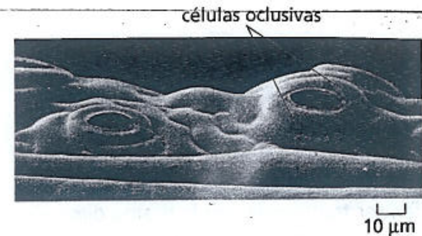


Figura 12-14. Estomas abiertos sobre la cara inferior de una hoja. La apertura y el cierre de estos poros están controlados por las células oclusivas con forma de salchicha que los rodean. (Cortesía de Kim Findlay).

Las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} se mantienen en un nivel reducido por la acción de bombas de Ca^{2+}

Aunque el Ca^{2+}, como el Na^+, se mantiene en una concentración citosólica reducida en comparación con la concentración extracelular, es mucho menos abundante que el Na^+ tanto en el interior como en el exterior de las células. Sin embargo, el pasaje de Ca^{2+} a través de las membranas celulares reviste una importancia fundamental porque tiene la capacidad de unirse firmemente a muchas otras moléculas de las células y alterar sus niveles de actividad. Por ejemplo, el ingreso de Ca^{2+} en el citosol a través de canales de Ca^{2+} actúa como una señal que desencadena otros procesos intracelulares, como la secreción de moléculas de señalización y la contracción de las células musculares.

Cuanto menor sea la concentración basal de Ca^{2+} libre en el citosol mayor será la sensibilidad de la célula a un aumento del nivel citosólico de Ca^{2+}. Las células eucariontes, en general, mantienen una concentración citosólica de Ca^{2+} libre muy reducida (alrededor de 10^{-4} mM) en presencia de una concentración extracelular de Ca^{2+} mucho mayor (en general, 1-2 mM). Esta enorme diferencia de concentración se logra sobre todo por medio de bombas de Ca^{2+} impulsadas por ATP loca-

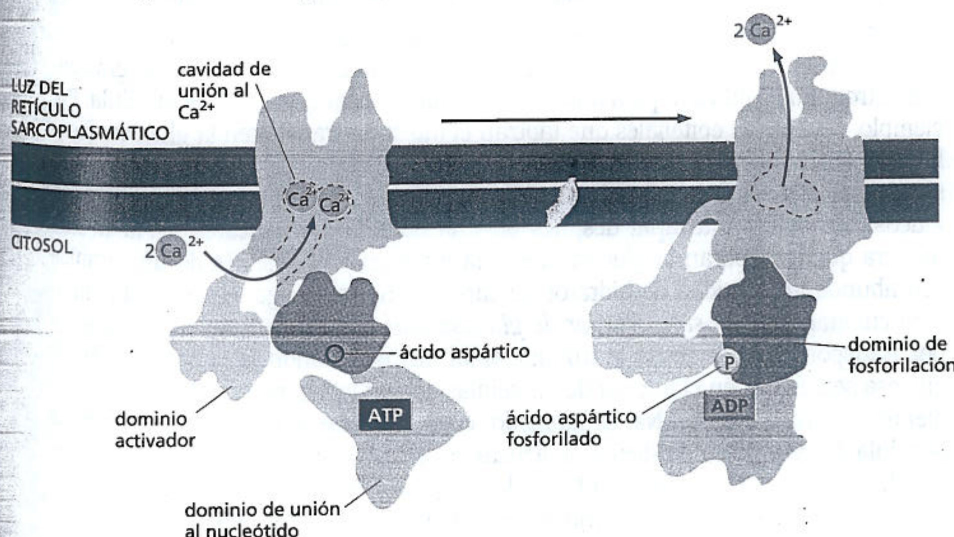


Figura 12-15. Una bomba de Ca^{2+} determina el retorno del Ca^{2+} al retículo sarcoplasmático de una célula muscular esquelética. La estructura tridimensional de esta proteína de transporte de membrana fue determinada mediante cristalografía de rayos X y microscopia electrónica. La bomba de calcio es una proteína única compuesta de cuatro dominios separados con diferentes funciones. La estimulación de una célula muscular determina que el calcio fluya desde el retículo sarcoplasmático (una forma especializada de retículo endoplasmático) hacia el citosol, que permite la contracción celular; durante la recuperación de la contracción la bomba de calcio hace que el Ca^{2+} retorne al retículo sarcoplasmático. La cadena polipeptídica de la proteína atraviesa la membrana en la forma de 10 hélices α. La unión del ATP y la consiguiente fosforilación de un ácido aspártico en la proteína transportadora inducen el cambio conformacional que aproximan mucho los dominios de unión al nucleótido y activador. Este proceso, a su vez, conduce a un reordenamiento de las hélices transmembrana, que elimina los sitios de unión al Ca^{2+} y libera iones de Ca^{2+} en la luz del retículo sarcoplasmático. Obsérvese que la vía seguida por los iones Ca^{2+} pasa a través de la proteína, lo que permite que los iones eviten el contacto con la bicapa lipídica. (Adaptada de C. Toyoshima y col., *Nature*, 405:647-655, 2000. Con autorización de Macmillan Publishiers Ltd.).

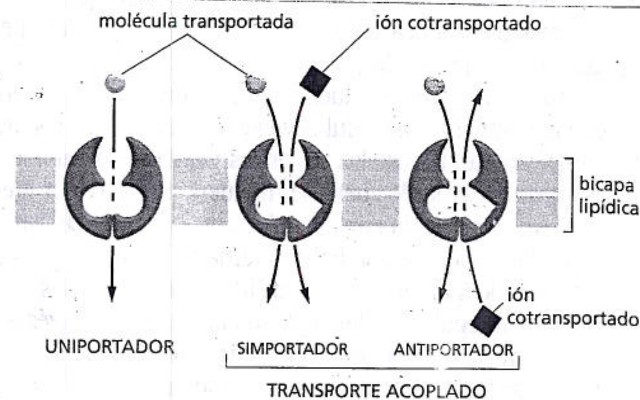


Figura 12-16. Algunas proteínas transportadoras llevan un sólo soluto a través de la membrana (uniportadoras); otras acoplan el transporte cuesta arriba de un soluto a través del transporte acoplado de otro. En el transporte acoplado los solutos pueden ser transferidos en la misma dirección, mediante simportadores, o en la dirección opuesta, por antiportadores (Película 12.3). Los uniportadores, los simportadores y los antiportadores median tanto el transporte pasivo como el transporte activo.

lizadas en la membrana plasmática y la membrana del retículo endoplasmático que bombean activamente Ca^{2+} desde el citosol hacia el exterior de la célula.

Al igual que la bomba de Na^+-K^+, la bomba de Ca^{2+} es una ATPasa que experimenta procesos de fosforilación y desfosforilación durante el ciclo de bombeo (véase Fig. 12-15). Se cree que el funcionamiento de esta bomba sería muy similar al descrito para la bomba de Na^+-K^+ en la figura 12-11, salvo por el hecho de que la bomba de Ca^{2+} recupera su conformación inicial sin unirse ni transportar a un segundo ión. Estas dos bombas impulsadas por ATP poseen secuencias de aminoácidos y estructuras similares (alrededor de 10 hélices en cada subunidad) y es probable que también tengan el mismo origen evolutivo.

Los gradientes favorecen que los transportadores acoplados capten nutrientes en forma activa

Así como se utiliza el gradiente de Na^+ generado por la bomba de Na^+-K^+, el gradiente de cualquier otro soluto a través de una membrana puede impulsar el transporte activo de una segunda molécula. El desplazamiento cuesta abajo del primer soluto en respuesta a su gradiente suministra la energía necesaria para impulsar el transporte cuesta arriba del segundo soluto. Las proteínas transportadoras que realizan esta tarea se denominan **transportadores acoplados** (véase Fig. 12-8). Estos transportadores pueden acoplar los movimientos de un ión inorgánico con los de otro ión inorgánico, los movimientos de un ión inorgánico con los de uno orgánico o los movimientos de un ión orgánico con los de otro orgánico. Si el transportador desplaza ambos solutos en la misma dirección a través de la membrana se denomina *simportador* (Fig. 12-16), mientras que si los desplaza en direcciones opuestas recibe el nombre de *antiportador*. Una proteína transportadora, como el transportador pasivo de glucosa descrito antes (Fig. 12-16), que sólo traslada un tipo de soluto a través de la membrana y, por lo tanto, no es un transportador acoplado, se denomina *uniportador*.

En las células animales cumplen una función especialmente importante los cotransportadores que utilizan el ingreso de Na^+ en la célula a favor de su gradiente electroquímico elevado para atraer otros solutos hacia el interior de la célula. Por ejemplo, las células epiteliales que tapizan el intestino transfieren la glucosa desde la luz intestinal a través del epitelio del intestino. Si estas células contaran exclusivamente con los transportadores pasivos de glucosa descritos antes liberarían glucosa en la luz intestinal después de una comida sin azúcares de la misma manera que incorporan la glucosa desde la luz intestinal después de una comida con abundante cantidad de hidratos de carbono. Sin embargo, estas células también cuentan con un *simportador de glucosa-Na^+* que les permite captar glucosa por transporte activo desde la luz intestinal incluso cuando la concentración de glucosa sea mayor en el interior de las células que en la luz intestinal. Como el gradiente electroquímico del Na^+ es marcado, cuando el Na^+ se desplaza al interior de la célula a favor de su gradiente, el azúcar es, en un sentido, "arrastrada" al interior de la célula con él (**Fig. 12-17**). Dado que la unión del Na^+ y la glucosa es cooperativa (es decir, la unión de uno refuerza la unión del otro) deben estar presentes ambas moléculas para que se produzca el transporte acoplado.

PREGUNTA 12-2

Un aumento de la concentración intracelular de Ca^{2+} induce la contracción de las células musculares. Además de la bomba de Ca^{2+} impulsada por ATP, las células musculares que se contraen en forma rápida y regular, como las células cardíacas, poseen un antiportador que intercambia Ca^{2+} por Na^+ extracelular a través de la membrana plasmática. La mayoría de los iones de Ca^{2+} que ingresan en la célula durante la contracción muscular son rápidamente expulsados de ella por este antiportador, lo que permite que la célula muscular se relaje. La ouabaína y el digital son fármacos útiles para el tratamiento de los pacientes con cardiopatías debido a que aumentan la fuerza de contracción del músculo cardíaco. Ambos fármacos actúan mediante la inhibición parcial de la bomba de Na^+-K^+ en la membrana de las células musculares cardíacas. ¿Puede ofrecer una explicación de los efectos de estos fármacos en los pacientes con enfermedades cardíacas? ¿Cuáles serían las consecuencias de una sobredosificación de cualquiera de estos fármacos?

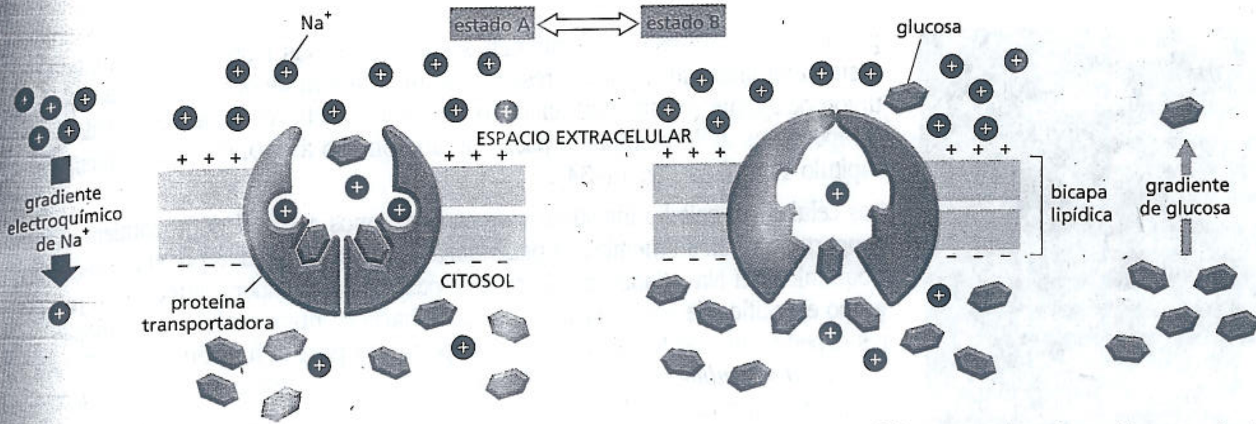


Figura 12-17. La proteína simportadora de glucosa-Na+ utiliza el gradiente electroquímico del Na+ para impulsar el ingreso de glucosa en la célula. La glucosa puede pasar a través de la membrana de las células epiteliales con la ayuda de transportadores activos y pasivos. La figura ilustra uno de los mecanismos mediante el cual la proteína simportadora glucosa-Na+ podría bombear activamente glucosa a través de la membrana utilizando el ingreso de Na+ a favor de su gradiente electroquímico e impulsar el transporte de glucosa. La bomba fluctúa en forma aleatoria entre dos estados alternados A y B. En el estado A la proteína está expuesta al espacio extracelular mientras que en el estado B está expuesta al citosol. Aunque la unión del Na+ y la glucosa a la proteína es similar en ambos estados, para que la unión de estos solutos a la proteína sea efectiva es necesario que ambos se encuentren presentes al mismo tiempo: la unión del Na+ induce un cambio conformacional de la proteína que aumenta en grado significativo su afinidad por la glucosa y viceversa. Dado que la concentración de Na+ es mucho mayor en el medio extracelular que en el citosol, es más probable que la glucosa se una a la bomba en el estado A; en consecuencia, el ingreso de Na+ y glucosa en el interior de la célula (mediante una transición A → B) es mucho más frecuente que la salida de estos solutos (mediante una transición B → A). El resultado global es el transporte neto de glucosa y Na+ hacia el interior de la célula. Obsérvese que, puesto que la unión es cooperativa, si uno de los dos solutos está ausente el otro soluto no se une a la bomba y no se transporta. En la pregunta 12-3 se considera una vía alternativa para el transporte acoplado.

Por otra parte, si las células epiteliales gastrointestinales tuvieran *sólo* este simportador no podrían liberar glucosa de modo que fuera utilizada por otras células del cuerpo. En consecuencia, estas células poseen dos tipos de transportadores de glucosa. En el dominio apical de la membrana plasmática, orientado hacia la luz intestinal, tienen simportadores de glucosa-Na+ que captan glucosa en forma activa y determinan una concentración de glucosa elevada en el citosol. En los dominios basal y lateral de la membrana plasmática hay uniportadores de glucosa pasivos que liberan la glucosa en respuesta a un gradiente de concentración de modo que puedan utilizarla otros tejidos del cuerpo (**Fig. 12-18**). Ambos tipos de trans-

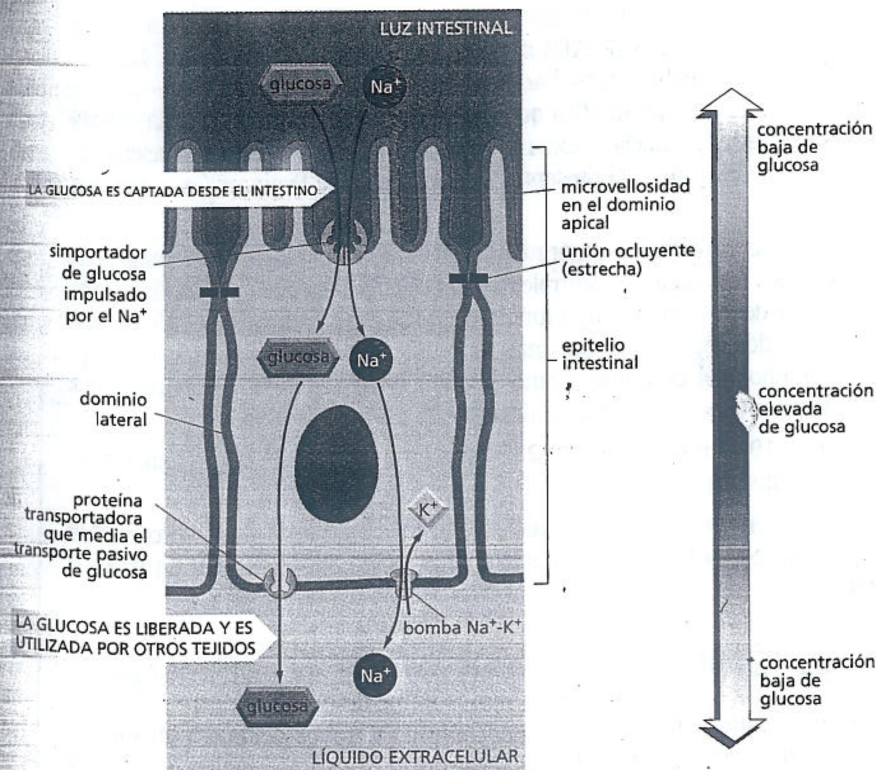


Figura 12-18. Dos tipos de transportadores de glucosa permiten que las células epiteliales del intestino transfieran glucosa a través de la mucosa intestinal. La glucosa es transportada activamente hacia el interior de las células mediante simportadores de glucosa impulsados por Na+ localizados en la superficie apical y sale de la célula a favor de su gradiente de concentración mediante la acción de uniportadores de glucosa pasivos localizados en las superficies basal y lateral (Película 12.4). Ambos tipos de transportadores de glucosa están separados en la membrana plasmática por uniones ocluyentes (estrechas; véase figura 11-34; estas uniones se describen después en el capítulo 20). Para mantener la concentración de Na+ baja en el citosol, el Na+ que ingresa a la célula por medio del simportador de glucosa impulsado por Na+ es bombeado hacia afuera por las bombas de Na+-K+. Hay gran cantidad de Na+ en la luz intestinal, provista por la dieta.

PREGUNTA 12-3

Una proteína transmembrana posee las siguientes propiedades: consta de dos sitios fijadores, uno para el soluto A y otro para el soluto B. Esta proteína puede experimentar un cambio conformacional y alternar entre dos estados diferentes: con ambos sitios de unión expuestos exclusivamente de un lado de la membrana o con ambos sitios de unión expuestos exclusivamente del lado opuesto de la membrana. La proteína puede pasar de un estado a otro sólo en el caso de que ambos sitios de unión estén ocupados o desocupados, pero no cuando un sólo sitio esté ocupado.
A. ¿Qué tipo de proteína definen estas propiedades?
B. ¿Es necesario agregar otras propiedades para que esta proteína se convierta en un cotransportador que acople el desplazamiento del soluto A en contra de su gradiente de concentración con el desplazamiento del soluto B a favor de su gradiente electroquímico?
C. Mencione las reglas que definen un antiportador.

portadores de glucosa se mantienen separados en sus respectivos dominios de la membrana plasmática por la presencia de una barrera de difusión formada por una unión ocluyente (o estrecha) alrededor del vértice de la célula, la que impide que los componentes de la membrana pasen de un dominio a otro, como se comentó en el capítulo 11 (véase Fig. 11-34).

Las células del epitelio intestinal y de otros órganos como el riñón contienen varios simportadores en su membrana plasmática que también actúan por el gradiente electroquímico del Na^+. Cada una de estas proteínas de transporte importa un pequeño grupo específico de azúcares o aminoácidos hacia el interior celular. Los antiportadores dependientes de Na^+ también son importantes para la función celular. Por ejemplo, el *intercambiador de Na^+ e H^+* en la membrana plasmática de muchas células animales utiliza el flujo de Na^+ cuesta abajo para bombear H^+ fuera de la célula. Éste es uno de los tantos dispositivos que utilizan las células animales para controlar el pH en su citosol.

Los gradientes de H^+ impulsan el transporte a través de la membrana en vegetales, hongos y bacterias

Las células vegetales, los hongos (incluidas las levaduras) y las bacterias no tienen bombas de Na^+-K^+ en sus membranas plasmáticas. En estos casos el transporte de solutos hacia el interior de la célula depende de un gradiente electroquímico de H^+ en lugar de un gradiente electroquímico de Na^+. Este gradiente es generado por bombas de H^+ presentes en la membrana plasmática que expulsan H^+ de la célula y de ese modo generan un gradiente electroquímico de protones, con una mayor concentración de H^+ en el medio extracelular que en el medio intracelular; durante este proceso la bomba de H^+ también crea un pH ácido en el medio que circunda la célula. En consecuencia, la captación de numerosos azúcares y aminoácidos hacia el interior de la célula depende de simportadores de H^+ que utilizan el gradiente electroquímico de H^+ a través de la membrana plasmática en forma muy similar a la que utilizan el gradiente electroquímico de Na^+ de las células animales.

En algunas bacterias fotosintéticas, el gradiente de H^+ es generado por la actividad de bombas de H^+ impulsadas por la energía lumínica como la bacteriorrodopsina (véase Fig. 11-28). En otras bacterias el gradiente deriva de la actividad de proteínas de la membrana plasmática que realizan los pasos finales del proceso de respiración celular que conducen a la síntesis de ATP, como se comenta en el capítulo 14. Los vegetales, los hongos y muchas otras bacterias generan el gradiente de H^+ mediante ATPasas de la membrana plasmática que utilizan la energía derivada de la hidrólisis del ATP para expulsar H^+ hacia el exterior de la célula; estas ATPasas se asemejan a las bombas de Na^+-K^+ y de Ca^{2+} presentes en las células de los mamíferos que analizamos antes.

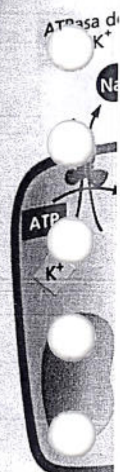
En las membranas de algunos orgánulos intracelulares, como los lisosomas de las células animales y las vacuolas centrales de las células vegetales y micóticas, existe un tipo diferente de H^+-ATPasa cuya función consiste en bombear H^+ desde el citosol hacia el interior del orgánulo lo que mantiene un pH neutro en el citosol y un pH ácido en el interior del orgánulo. Como se verá en el capítulo 15, la función de muchos orgánulos depende del mantenimiento de un medio ácido.

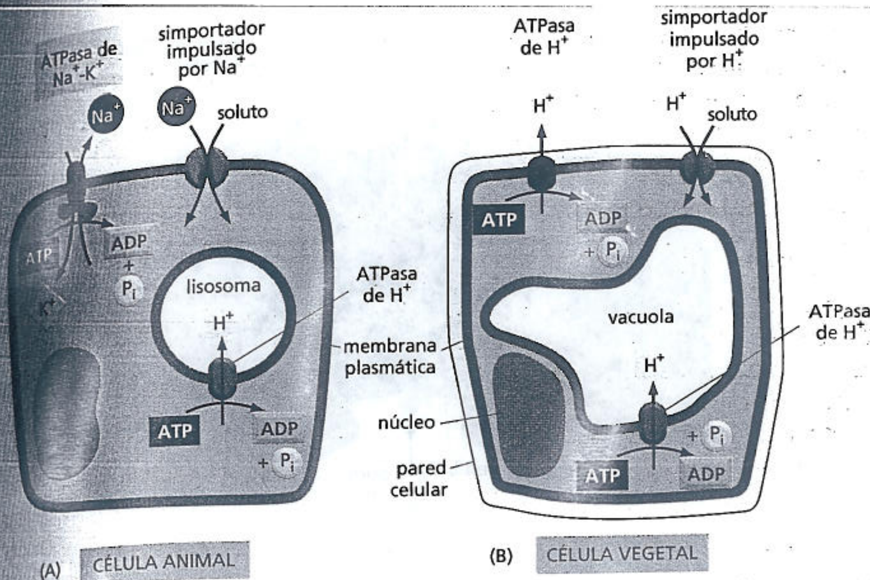
En la figura 12-19 y en el cuadro 12-2 se muestran algunas de las proteínas transportadoras descritas en este capítulo.

A continuación consideraremos el transporte de iones a través de las proteínas de canal y explicaremos la forma en la que este flujo iónico puede generar un potencial de membrana.

CANALES IÓNICOS Y POTENCIAL DE MEMBRANA

El paso de una pequeña molécula hidrosoluble de un lado a otro de la membrana celular es posible mediante un canal hidrófilo a través del cual pueda desplazarse la molécula. En las membranas celulares esta función se realiza por las proteínas





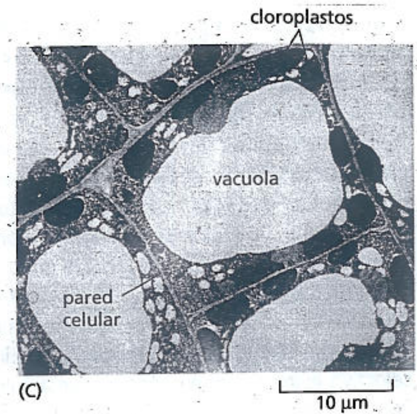


Figura 12-19. Existen semejanzas y diferencias entre las células animales y vegetales en lo que respecta al transporte de solutos mediado por transportadores. Mientras que en las células animales el transporte activo de solutos a través de la membrana plasmática a menudo es impulsado por un gradiente electroquímico de Na^+ generado por la bomba de Na^+-K^+ (ATPasa de Na^+-K^+) (A), en las células vegetales (B), las bacterias y los hongos (incluidas las levaduras) este proceso es impulsado por un gradiente electroquímico de H^+, generalmente creado por una ATPasa de H^+. Los lisosomas de las células animales y las vacuolas de las células vegetales y micóticas contienen en la membrana una ATPasa de H^+ que bombea H^+ hacia el interior de la célula y contribuye a mantener ácido el medio interno de estos orgánulos. (C) La microfotografía electrónica muestra las vacuolas de las células de una hoja de tabaco joven. (C, cortesía de J. Burgess).

de canal, que forman poros acuosos transmembrana que permiten el movimiento pasivo de moléculas hidrosolubles pequeñas hacia el interior o el exterior de las células o los orgánulos.

Una pequeña cantidad de proteínas de canal pueden formar poros relativamente grandes, como las proteínas que forman *uniones comunicantes (gap)* entre dos células vecinas (véase Fig. 21-28) y las *porinas* que forman canales en la membrana externa de las mitocondrias y algunas bacterias (véase Fig. 11-25). Sin embargo, estos canales tan grandes y permisivos conducirían a fugas catastróficas si conectaran directamente el citosol de una célula con el espacio extracelular. En consecuencia, la mayoría de las proteínas de canal presentes en la membrana plasmática de las células animales y vegetales son diferentes y poseen poros estrechos y altamente selectivos. Casi todas estas proteínas son canales iónicos relacionados exclusivamente con el transporte de iones inorgánicos, sobre todo Na^+, K^+, Cl^- y Ca^{2+}.

Los canales iónicos son selectivos para los distintos iones y están regulados

Dos propiedades importantes diferencian los canales iónicos de los poros acuosos simples. La primera es que los canales iónicos poseen *selectividad iónica* que determina que pasen algunos iones inorgánicos pero no otros. La selectividad iónica depende del diámetro y la conformación de los canales iónicos y de la dis-

CUADRO 12-2 ALGUNOS EJEMPLOS DE PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS

PROTEÍNA TRANSPORTADORA	LOCALIZACIÓN	FUENTE DE ENERGÍA	FUNCIÓN
Transportador de glucosa	Membrana plasmática de la mayor parte de las células animales	Ninguna	Ingreso pasivo de glucosa
Bomba de glucosa impulsada por Na^+	Membrana plasmática apical de células renales e intestinales	Gradiente de Na^+	Ingreso activo de glucosa
Intercambiador de Na- H^+	Membrana plasmática de células animales	Gradiente de Na^+	Salida activa de iones H^+, regulación del pH
Bomba de Na^+-K^+ (ATPasa de Na^+-K^+)	Membrana plasmática de la mayor parte de las células animales	Hidrólisis del ATP	Salida activa de Na^+ e ingreso de K^+
Bombas de Ca^{2+} (ATPasa de Ca^{2+})	Membrana plasmática de células eucariontes	Hidrólisis del ATP	Salida activa de Ca^{2+}
Bomba de H^+ (ATPasa de H^+)	Membrana plasmática de células vegetales, hongos y algunas bacterias	Hidrólisis del ATP	Salida activa de H^+ hacia el exterior de la célula
Bomba de H^+ (ATPasa de H^+)	Membrana de lisosomas en células animales y de vacuolas en células vegetales y hongos	Hidrólisis del ATP	Salida activa de H^+ desde el citosol hacia el interior de las vacuolas
Bacteriorrodopsina	Membrana plasmática de algunas bacterias	Luz	Salida activa de H^+ hacia el exterior de la célula

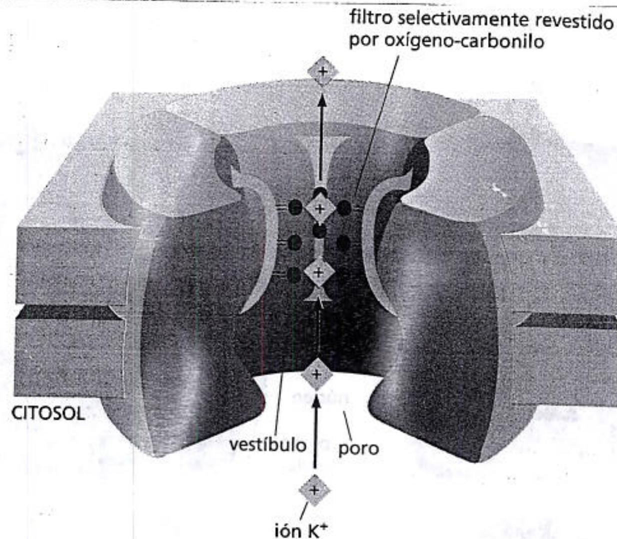


Figura 12-20. Una proteína de canal de K^+ tiene un filtro selectivo que permite el paso de ciertos iones e impide el paso de otros a través de la membrana. La figura ilustra una fracción de una proteína de canal de K^+ bacteriana. En el dibujo se omitió la cuarta subunidad para exponer la estructura interior del poro. Del lado citosólico el poro se abre en un vestíbulo que se localiza en la parte media de la membrana. Los iones K^+ presentes en el vestíbulo aún están revestidos por sus moléculas de agua asociadas. El filtro selectivo estrecho, que conecta el vestíbulo con el exterior de la célula, está revestido por átomos de carbonilo-oxígeno (rojo) que portan una carga negativa parcial y forma sitios de unión transitorios para los iones K^+ que abandonaron sus cubiertas acuosas. (Adaptada de D. A. Doyle et al., *Science*, 280:69-77, 1998. Con autorización de la AAAS).

tribución de los aminoácidos cargados que los revisten: en algunos sitios estos canales son lo suficientemente estrechos como para que los iones entren en contacto con la pared del canal, lo que implica que puedan pasar sólo los iones de tamaño y carga apropiados (**Fig. 12-20**). Por ejemplo, los canales estrechos no permiten el paso de iones de gran tamaño y los canales con un revestimiento de cargas negativas impedirán el ingreso de iones negativos debido a la repulsión electrostática mutua entre cargas del mismo signo. Estos principios establecen la presencia de canales selectivos para un sólo tipo de ión, por ejemplo el Cl^- o el K^+ (**Película 12.5**). En las soluciones acuosas todos los iones están rodeados por una pequeña cubierta de moléculas de agua y para poder pasar de a uno por vez a través del filtro selectivo de la porción más estrecha del canal deben perder la mayor parte de las moléculas de agua asociadas. En esta parte del canal los iones establecen contactos muy importantes, aunque transitorios, con los átomos que revisten las paredes del filtro selectivo (véase Fig. 12-20). Estos átomos ubicados en sitios estratégicos permiten que el canal discrimine entre iones que presentan diferencias de tamaño muy sutiles. Este paso del proceso de transporte también limita la velocidad máxima del pasaje de iones a lo largo del canal. Por lo tanto, a medida que aumenta la concentración de los iones, su flujo a lo largo de un canal en un primer momento aumenta en relación directamente proporcional, pero después se estabiliza (es decir, se satura) a una velocidad máxima.

La segunda diferencia importante entre los poros acuosos simples y los canales iónicos consiste en que estos últimos no están continuamente abiertos. El sentido del transporte iónico se perdería si no existiera la posibilidad de controlar el flujo iónico y si la totalidad de los varios miles de canales iónicos de una membrana celular estuvieran abiertos en forma continua. Lo que sucede realmente es que los canales iónicos se abren durante un lapso breve para luego volver a cerrarse (**Fig. 12-21**). Como se verá después, la apertura y el cierre de la "compuerta" de la mayoría de los canales iónicos están *regulados* por distintos factores, es decir, un estímulo específico determina que los canales iónicos fluctúen entre el estado de apertura y el estado de cierre mediante un cambio en su conformación.

Los canales iónicos presentan una gran ventaja respecto de las proteínas transportadoras en lo que se refiere a la velocidad de transporte máxima ya que un

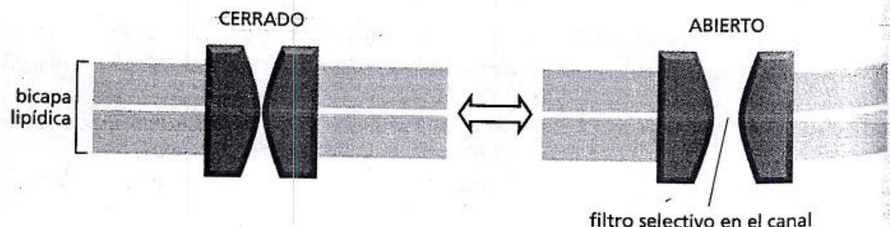


Figura 12-21. Un canal iónico típico fluctúa entre las formas cerrada y abierta. El canal ilustrado en la figura en un corte transversal forma un poro hidrófilo a través de la bicapa lipídica sólo cuando se encuentra en la conformación "abierta". Se considera que la pared del poro estaría revestida por grupos polares y que las cadenas laterales de aminoácidos hidrófobas interactuarían con la bicapa lipídica (no dibujada). En el nivel del filtro selectivo, que determina en gran medida la selectividad iónica del canal, el poro disminuye de calibre hasta alcanzar dimensiones atómicas (véase Fig. 12-20).

canal iónico abierto no necesita sufrir cambios conformacionales cuando es atravesado por un ion. A lo largo de un canal iónico puede pasar más de un millón de iones por segundo, lo que representa una velocidad 1.000 veces mayor que la velocidad máxima de transporte asociada con cualquiera de las proteínas transportadoras conocidas. Además, los canales iónicos no pueden acoplar el flujo iónico con una fuente de energía para llevar a cabo un transporte activo. La función de la mayor parte de los canales iónicos consiste meramente en inducir una permeabilidad transitoria de la membrana a determinados iones orgánicos, principalmente Na^+, K^+, Ca^{2+} o Cl^-, y permitir que estos iones difundan con rapidez a través de la membrana en respuesta a sus gradientes electroquímicos cuando las compuertas de los canales iónicos se encuentren abiertas.

Gracias al transporte activo mediado por bombas y otras proteínas transportadoras, la mayor parte de las concentraciones de iones nunca son idénticas a ambos lados de la membrana. Por lo tanto, cuando un canal se abre los iones pasan a través de él con rapidez. Esta ráfaga de iones equivale a un pulso de descarga eléctrica en el interior de la célula (si los iones fluyen hacia el citosol) o fuera de ella (si los iones fluyen hacia el medio extracelular). El flujo de iones modifica el voltaje a través de la membrana, es decir el potencial de membrana, lo que también altera las fuerzas electroquímicas impulsoras del movimiento transmembrana de todos los otros iones. El flujo de iones también induce la apertura o el cierre (en el curso de milisegundos) de otros canales iónicos específicamente sensibles a las modificaciones del potencial de membrana. La intensa actividad eléctrica resultante puede propagarse con rapidez de una región de la membrana celular a otra y transmitir señales eléctricas, como se verá más adelante en el contexto de las células nerviosas. Este tipo de señalización eléctrica no se limita a las células animales sino que, también, se observa en los protozoos y las plantas. Ciertas plantas carnívoras, como la Venus atrapamoscas, utilizan señales eléctricas para detectar y atrapar insectos (**Fig. 12-22**).

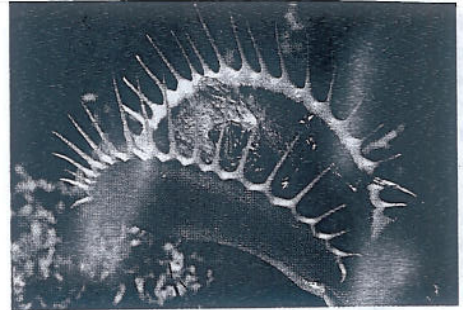


Figura 12-22. La planta carnívora *Venus cazamoscas* utiliza señales eléctricas para capturar a su presa. La presencia de un insecto sobre su superficie determina que las hojas se cierren bruscamente en menos de medio segundo. Esta respuesta es desencadenada por el contacto sucesivo del insecto con dos de los tres cilios disparadores presentes en el centro de cada hoja. Este estímulo mecánico induce la apertura de canales iónicos y desencadena una señal eléctrica que, mediante un mecanismo que se desconoce, provoca una modificación rápida de la presión de turgencia que induce el cierre de las hojas. (Cortesía de J. S. Sira, Garden Picture Library).

El potencial de membrana representa el elemento fundamental de toda la actividad eléctrica de las células, sean vegetales, animales o protozoos. Antes de describir la forma en que se genera el potencial de membrana veremos cómo se mide la actividad de los canales iónicos.

Los canales iónicos fluctúan en forma aleatoria entre los estados abierto y cerrado

El principal método utilizado en la actualidad para estudiar los desplazamientos de iones y los canales iónicos en las células vivas consiste en la medición de las modificaciones de la corriente eléctrica. Las técnicas de registro eléctrico progresaron hasta tal punto que permiten detectar y medir la corriente eléctrica que fluye a través de una molécula de proteína de canal aislada. El procedimiento utilizado se conoce con el nombre de **registro de zona** y permite obtener una imagen directa y notable del comportamiento de cada canal iónico.

El procedimiento de registro de zona se basa en la utilización de un tubo fino de vidrio como *microelectrodo* para establecer contacto con una pequeña área de la superficie celular (**Fig. 12-23**). La técnica del registro de zona permite analizar la actividad de los canales iónicos de cualquier tipo de célula, es decir, no solamente de las células nerviosas de gran tamaño que se caracterizan por una intensa actividad eléctrica sino también de células como las levaduras, que son demasiado pequeñas para que las alteraciones eléctricas que se producen en ellas puedan detectarse por otros medios. La modificación de la concentración de iones en el medio que baña ambos lados de la fracción de membrana aislada permite determinar cuáles son los iones que pasarán por sus canales. El uso de circuitos electrónicos apropiados también permite regular y mantener el voltaje a través de la zona de membrana en cualquier valor seleccionado, es decir el potencial de membrana. La posibilidad de exponer las membranas a diferentes voltajes permite estudiar la forma en la que los cambios del potencial de membrana afectan la apertura y el cierre de los canales presentes en la membrana.

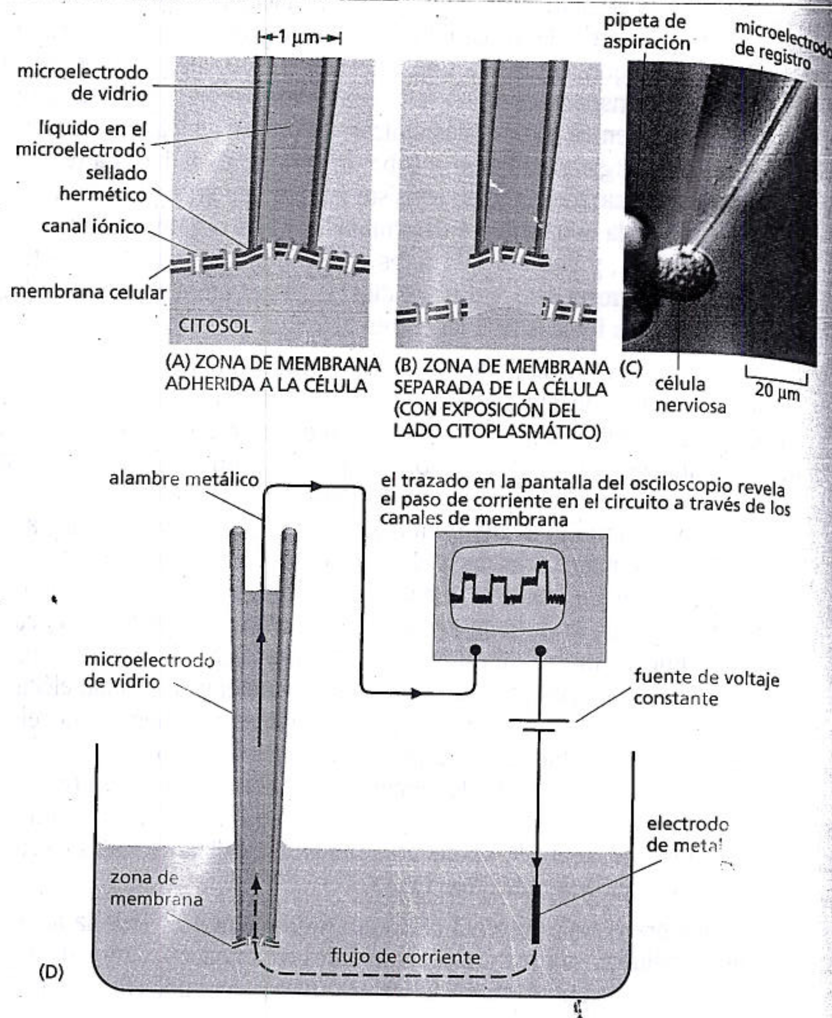


Figura 12-23. La técnica del registro de zona se utiliza para estudiar la actividad de los canales iónicos. En primer lugar, el microelectrodo se construye calentando el tubo de vidrio y traccionándolo a fin de generar una punta muy delgada con un diámetro de tan sólo algunos micrómetros; a continuación, el tubo se llena con una solución acuosa conductora y la punta fina se coloca de manera que ejerza presión sobre la superficie de la célula. Después se aplica una fuerza de aspiración suave para inducir un cierre eléctrico hermético en el punto que la membrana celular entra en contacto con el extremo del microelectrodo (A). El sellado hermético provocado por el contacto de la punta del microelectrodo con la membrana determina que la corriente sólo pueda entrar en el microelectrodo o salir de él pasando a través de los canales presentes en la porción de membrana que cubre la punta del microelectrodo (B). Si se desea exponer el lado citosólico de la membrana, la zona de la membrana aspirada por el microelectrodo se separa suavemente de la célula. La ventaja de separar la zona de membrana es que permite alterar con facilidad la composición de la solución a ambos lados de la membrana para evaluar los efectos de diversos solutos sobre el comportamiento del canal. (C) La microfotografía muestra una célula nerviosa del ojo en la punta de una pipeta de aspiración (el extremo de la pipeta se observa a la izquierda) mientras se utiliza un microelectrodo para el registro de zona. (D) Circuito del registro de zona. En el extremo opuesto y abierto del microelectrodo se introduce un alambre metálico. La corriente que ingresa en el microelectrodo a través de los canales iónicos del pequeño segmento de membrana que recubre su punta pasa por el alambre a través de instrumentos de medición para retornar al medio que baña la célula o la fracción de membrana desprendida (C, de T. D. Lamb, H. R. Matthews y V. Torre, *J Physiol.* 37:315-349, 1986. Con autorización de Blackwell Publishing).

Si la zona de membrana aislada es lo suficientemente pequeña puede contener un sólo canal iónico. Los instrumentos de medición eléctrica modernos son lo bastante sensibles para detectar el flujo iónico a lo largo de un sólo canal en la forma de una corriente eléctrica de muy baja intensidad (en el orden de 10^{-12} amperes). Estas corrientes con frecuencia se comportan en forma sorprendente: aun en presencia de condiciones constantes las corrientes se activan y desactivan bruscamente como si se accionase un interruptor en forma aleatoria (Fig. 12-24). Este comportamiento implica que el canal posee partes móviles y fluctúa entre las conformaciones abierta y cerrada (véase Fig. 12-21). Dado que este comportamiento se observa incluso en presencia de condiciones constantes, es posible que indique que la proteína de canal pasa de una conformación a otra debido a la acción de movimientos térmicos aleatorios de las moléculas. El registro en un solo canal es una de las pocas técnicas que permiten seguir los cambios conformacionales de una molécula proteica aislada. La imagen evocada por este procedimiento, es decir

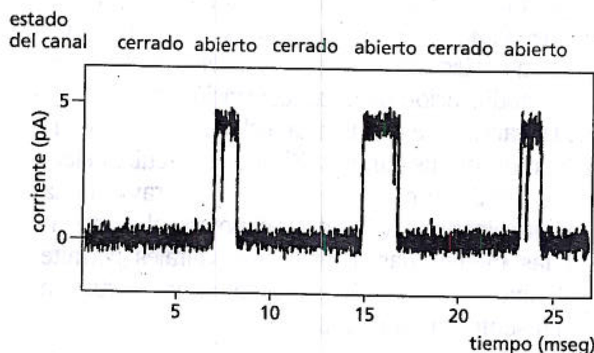


Figura 12-24. El comportamiento de un canal iónico aislado puede observarse mediante el empleo de la técnica del registro de zona. Durante el registro se mantiene constante el voltaje (potencial de membrana) a través de una zona de membrana aislada. En este ejemplo la membrana deriva de una célula muscular y contiene una sola proteína de canal que responde al neurotransmisor acetilcolina. Este canal iónico se abre permitiendo el pasaje de iones positivos cuando la acetilcolina se une al lado externo del canal, como en el caso ilustrado en la figura. Aun cuando se encuentre unido a la acetilcolina, como sucede durante las tres aperturas del canal mostradas en la figura, el canal no permanece abierto en forma continua sino que fluctúa entre los estados abierto y cerrado, como se observa en los momentos de caída transitoria de la corriente entre los tres picos eléctricos. Si no estuviera unido a la acetilcolina, el canal se abriría muy rara vez. (Cortesía de David Colquhoun).

una pieza mecánica de movimientos bruscos sometida a un golpeteo constante, también es válida para otras proteínas con partes móviles.

Si los canales iónicos fluctúan de modo aleatorio entre los estados abierto y cerrado aun cuando se mantengan constantes las condiciones a ambos lados de la membrana, ¿de qué manera el estado de los canales iónicos puede ser regulado por condiciones intracelulares o extracelulares? En realidad, cuando las condiciones se modifican el comportamiento aleatorio continúa, pero el espectro de posibilidades varía en grado significativo: si las alteraciones de las condiciones tienden a favorecer el estado de apertura, el canal permanecerá en una conformación abierta durante un período mucho más prolongado, aunque no en forma continua (véase Fig. 12-24). Cuando un canal iónico se abre, la apertura es completa y cuando se cierra también lo hace completamente.

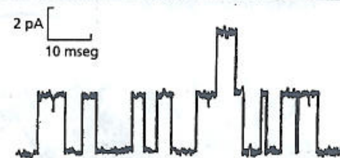
Distintos tipos de estímulos afectan la apertura y el cierre de los canales iónicos

Existen más de cien tipos de canales iónicos y hasta un organismo simple puede tener varios canales iónicos diferentes. Por ejemplo, el nematodo *C. elegans* tiene genes que codifican 68 canales de K^+ distintos, pero relacionados entre sí. Los canales iónicos se diferencian uno de otro principalmente en lo que respecta a: 1) la *selectividad iónica*, es decir, el tipo de iones que permiten pasar, y 2) la *regulación* (*gating*), es decir, las condiciones que determinan la apertura y el cierre del canal. En el caso de un **canal regulado por voltaje** la probabilidad de que se encuentre abierto depende del potencial de membrana (Fig. 12-25A). En el caso de un **canal regulado por ligando** la probabilidad de que se encuentre abierto depende de la unión de una molécula (el ligando) a la proteínas de canal (Figs. 12-25B y C). En el caso de un **canal activado por estrés** la apertura es controlada por una fuerza mecánica ejercida sobre el canal (Fig. 12-24D). Las *células ciliadas auditivas* representan un ejemplo importante de células que dependen de este tipo de canal. Las vibraciones sonoras inducen la apertura de los canales activados por estrés y determinan el flujo de iones hacia el interior de las células ciliadas; este mecanismo genera una señal eléctrica que se transmite desde la célula auditiva hacia el nervio auditivo, el que a su vez la transmite al cerebro (Fig. 12-26).

Los canales iónicos regulados por voltaje responden al potencial de membrana

Los canales regulados por voltaje desempeñan una función importante en la propagación de señales eléctricas en las células nerviosas. Estos canales también están presentes en muchas otras células, como por ejemplo las células muscula-

PREGUNTA 12-4



La figura P12-4 ilustra el trazado de un estudio experimental con registro de zona en el que se mide la corriente que pasa a través de un segmento de membrana en función del tiempo. Este segmento de membrana se obtuvo de la membrana plasmática de una célula muscular mediante la técnica ilustrada en la figura 12-23 y contiene moléculas de receptor de acetilcolina, un canal regulado por ligando que se abre después de la unión de la acetilcolina con la cara extracelular de la proteína de canal. Con la finalidad de obtener un trazado se agregó acetilcolina a la solución del microelectrodo. Describa la información que aporta este trazado en relación con los canales. ¿De qué manera se modificaría este registro si la acetilcolina fuese a) eliminada o b) agregada solamente a la solución que circunda al microelectrodo?

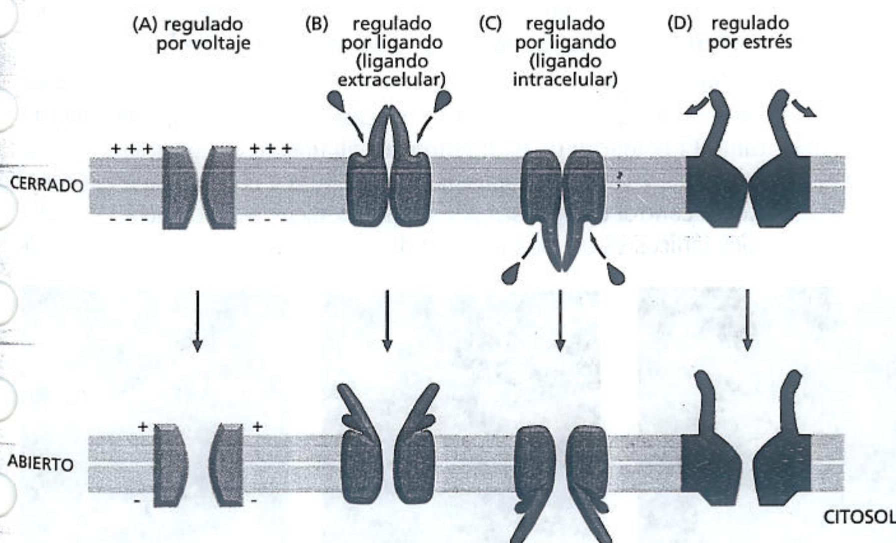


Figura 12-25. Los canales iónicos regulados responden a distintos tipos de estímulos. Según el tipo de canal iónico, las compuertas del canal se abren en respuesta a una alteración de la diferencia de voltaje a través de la membrana (A); a la unión de un ligando químico al canal, sea en el exterior (B) o el interior (C) de la célula, o a la estimulación mecánica (D).

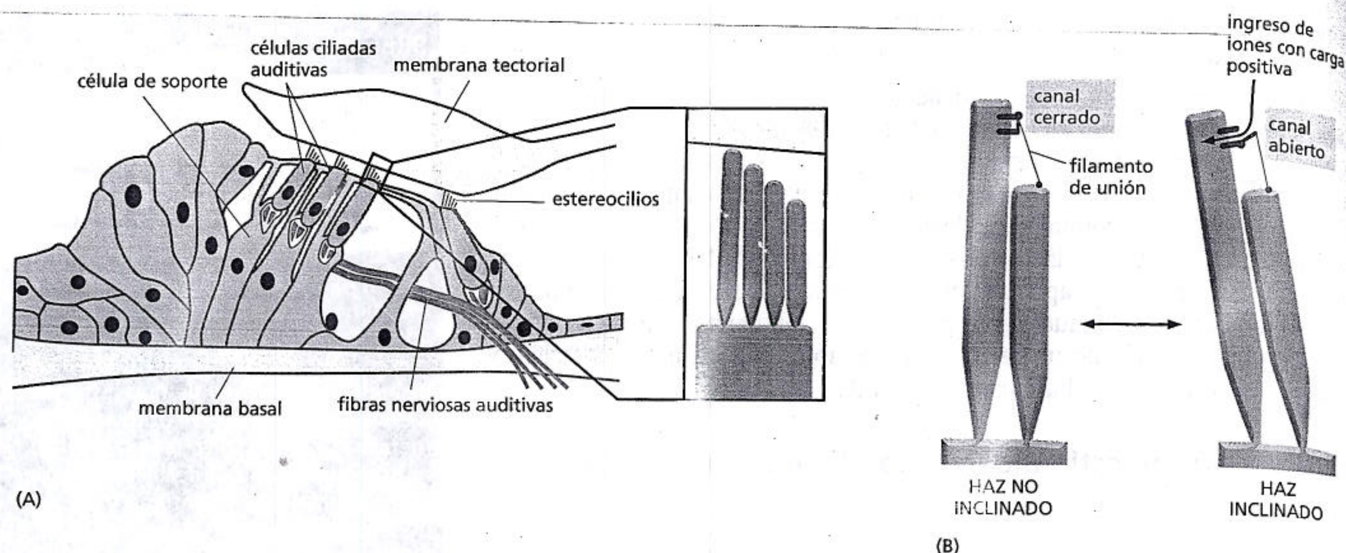


Figura 12-26. Los canales iónicos activados por estrés nos permiten oír. (A) Corte a través del órgano de Corti, que transcurre a lo largo de la cóclea del oído interno. Cada célula ciliada auditiva posee un conjunto de extensiones espinosas denominadas estereocilios que se proyectan desde su parte superior. Las células ciliadas están inmersas en una lámina de células de soporte comprimidas entre la membrana basal por abajo y la membrana tectorial por arriba. Estas membranas no son bicapas lipídicas sino láminas de matriz extracelular. (B) Las vibraciones sonoras inducen vibraciones de la membrana basal que determinan la inclinación de los estereocilios. Cada estereocilio de una célula ciliada está unido al estereocilio siguiente (más corto que el precedente) por un filamento fino. La inclinación de los estereocilios estira los filamentos y este movimiento de tracción determina la apertura de canales iónicos activados por estrés en la membrana de los estereocilios. Este proceso permite el ingreso de iones con carga positiva desde el líquido circundante (Película 12.6). El ingreso de iones activa las células ciliadas, las que estimulan células nerviosas subyacentes que envían la señal auditiva al cerebro. El mecanismo de las células ciliadas es sumamente sensible: se estima que la fuerza necesaria para abrir un sólo canal sería de alrededor de 2×10^{-13} newtons. Además, se considera que los sonidos más débiles perceptibles para el oído humano estirarían los filamentos alrededor de 0,04 nm, menos que el diámetro de un ión de hidrógeno. La Película 12.7 muestra la marcada flexibilidad de estas estructuras.

res, los oocitos, los protozoos e incluso las células vegetales, en las que permiten la transmisión de las señales eléctricas entre distintas partes de la planta, por ejemplo, la respuesta del cierre de las hojas del árbol mimosa (Fig. 12-27). Los canales iónicos regulados por voltaje poseen dominios proteicos con carga especializados que reciben el nombre de *sensores de voltaje* y que son sumamente sensibles a las modificaciones del potencial de membrana: toda alteración de este potencial por arriba de cierto umbral ejerce una fuerza sobre estos dominios proteicos de magnitud suficiente como para inducir el paso del canal de la conformación cerrada a la abierta o viceversa. Un cambio del potencial de membrana no afecta la amplitud de la apertura del canal sino que modifica la probabilidad de que el canal esté abierto. Por ejemplo, en un segmento de membrana extenso que contuviera numerosas moléculas de proteínas de canal podría suceder que un promedio del 10% de estos canales iónicos se encontraran abiertos en cualquier instante dado asociado con un potencial de membrana determinado mientras que en presencia de otro potencial de membrana este porcentaje aumentaría hasta el 90%.

Para poder apreciar la función que desempeñan los canales regulados por voltaje en una célula viva es necesario considerar los mecanismos que controlan el potencial de membrana. El potencial de membrana sencillamente es controlado por los propios canales iónicos y varía en respuesta a la apertura y el cierre de estos canales. Este circuito de control compuesto por canales iónicos → potencial de membrana → canales iónicos es un elemento fundamental para todos los procesos de

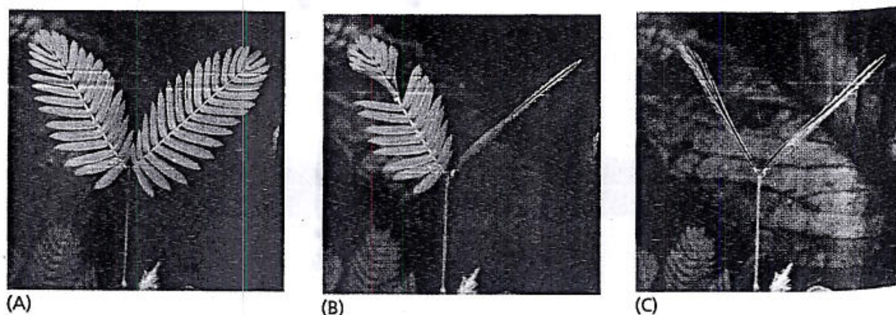


Figura 12-27. Los canales iónicos regulados por voltaje son el mecanismo subyacente de la respuesta de cierre de las hojas en la mimosa. (A) Hoja en reposo. (B y C) Respuestas sucesivas a la estimulación táctil. Unos segundos después de recibir un estímulo táctil las hojillas se retraen. Esta respuesta se relaciona con la apertura de canales iónicos regulados por voltaje y la generación resultante de un impulso eléctrico. En el momento en que el impulso llega a células "gozne" especializadas, localizadas en la base de cada hojilla, induce una rápida pérdida de agua en estas células que determina que las hojillas se replieguen en forma rápida y progresiva. (Cortesía de G. I. Bernard, con autorización de Oxford Scientific Films).

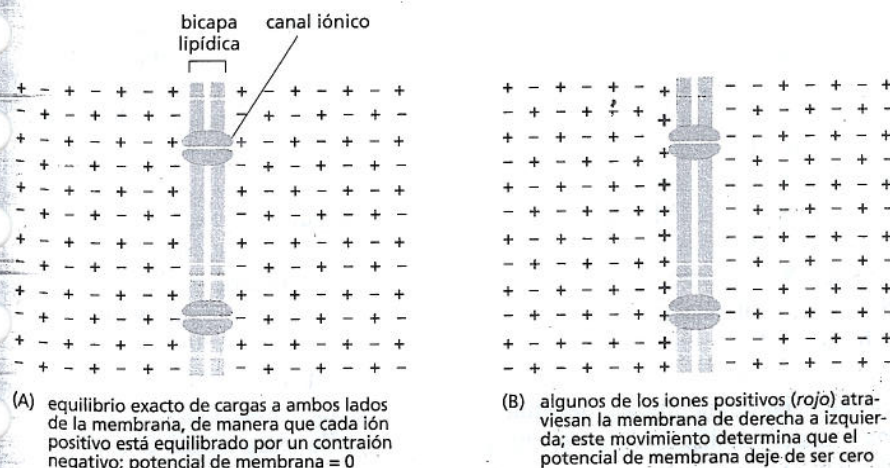
señalización eléctrica en las células. Ahora que conocemos los mecanismos mediante los cuales el potencial de membrana puede regular los canales iónicos comentaremos los mecanismos que permiten que los canales iónicos controlen el potencial de membrana. En la parte final del capítulo analizaremos el modo en que este circuito de control actúa en la propagación de señales en células nerviosas.

El potencial de membrana está gobernado por la permeabilidad de la membrana a iones específicos

Todas las células poseen una diferencia de potencial eléctrico o potencial de membrana, a través de la membrana plasmática. Para comprender la génesis de este potencial es útil recordar algunos principios fundamentales de la electricidad. Mientras que en los metales la electricidad es transportada por electrones, en las soluciones acuosas es transportada por iones, que pueden tener cargas positiva (cationes) o negativa (aniones). El flujo de iones a través de una membrana celular se detecta como una corriente eléctrica mientras que la acumulación de iones no contrarrestada por la acumulación exactamente equivalente de iones de carga opuesta se detecta como una acumulación de carga eléctrica, o un potencial de membrana (Fig. 12-28).

Para comprender el origen y el mantenimiento de un potencial de membrana se deben tener presentes los desplazamientos de iones hacia el interior y el exterior de una célula animal típica en un estado "de reposo" o no estimulado. Las cargas negativas de las moléculas orgánicas confinadas en el interior de la célula son equilibradas en gran medida por el K^+, el ión que predomina en el medio intracelular. La concentración intracelular elevada de K^+ es generada en parte por la bomba de Na^+-K^+, que bombea en forma activa el K^+ hacia el interior de la célula. Este fenómeno determina una diferencia importante de concentración para el K^+ a través de la membrana plasmática, con una concentración de K^+ mucho mayor en el interior de las células que en el exterior. Sin embargo, la membrana plasmática también contiene un conjunto de canales de K^+ conocidos con el nombre de *canales de fuga de* K^+. Estos canales fluctúan en forma aleatoria entre los estados abierto y cerrado, independientemente de las condiciones presentes en el interior o el exterior de las células y, cuando están abiertos, permiten el libre desplazamiento del K^+. En una célula en reposo estos canales representan los principales canales iónicos abiertos en la membrana plasmática, lo que determina que la membrana plasmática en reposo sea mucho más permeable al K^+ que a otros iones.

El K^+ tiende a fluir hacia el exterior de la célula a través de estos canales en respuesta a un gradiente de concentración muy marcado, pero cualquier desplazamiento de cargas positivas hacia el exterior deja cargas negativas no equilibradas en el interior, lo que a su vez genera un campo eléctrico, o potencial de membrana, que se opone a todo pasaje ulterior del K^+ hacia el medio extracelular. En el transcurso de alrededor de un milisegundo se establece una condición de equili-

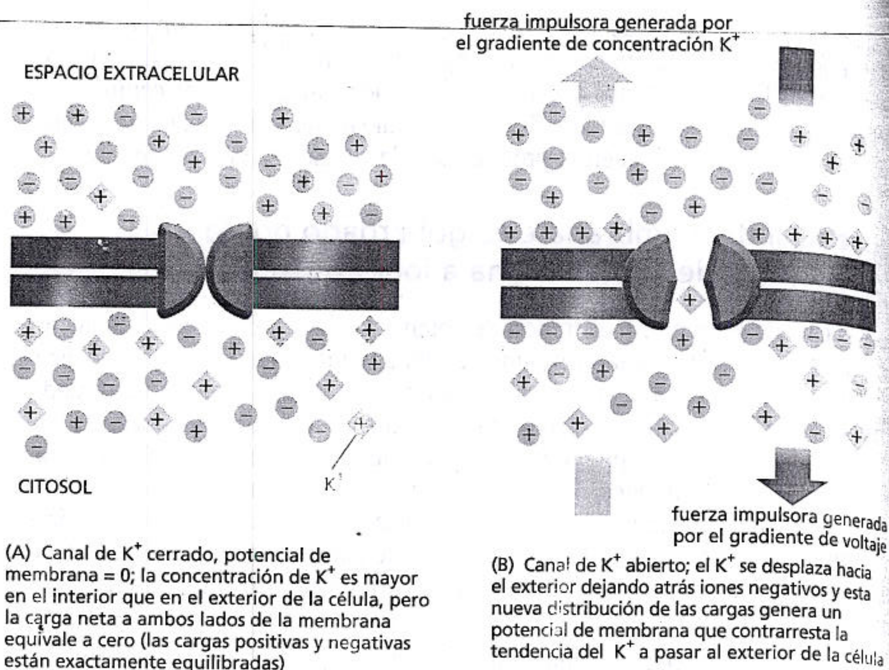


(A) equilibrio exacto de cargas a ambos lados de la membrana, de manera que cada ión positivo está equilibrado por un contraión negativo; potencial de membrana = 0

(B) algunos de los iones positivos (*rojo*) atraviesan la membrana de derecha a izquierda; este movimiento determina que el potencial de membrana deje de ser cero

Figura 12-28. La distribución de iones a ambos lados de la bicapa genera el potencial de membrana. El potencial de membrana es resultado de una delgada capa (<1 nm) de iones cerca de la membrana que se mantiene in situ debido a la atracción eléctrica ejercida por los iones de carga contraria localizados del lado opuesto de la membrana. (A) Cuando hay un equilibrio exacto de cargas a cada lado de la membrana no hay potencial de membrana. (B) Cuando los iones de un tipo atraviesan la membrana, generan una diferencia de carga entre ambos lados de la membrana que crea un potencial de membrana. La cantidad de iones que debe desplazarse a través de la membrana para crear el potencial de membrana representa una ínfima fracción del total de iones presentes (6.000 iones K^+ que atraviesen 1 μm^2 de membrana celular son suficientes para modificar el potencial de membrana en el orden de alrededor de 100 mV; la cantidad de iones K^+ presentes en 1 μm^3 de citoplasma es 70.000 veces mayor).

Figura 12-29. Los canales de fuga de K+ desempeñan una función importante en la generación del potencial de membrana a través de la membrana plasmática. Si se parte de una situación hipotética en la que el potencial de membrana sea cero, los iones K+ tenderán a abandonar la célula a través de canales de fuga de K+ a favor de su gradiente de concentración. Si se supone que la membrana no contiene canales abiertos permeables a otros iones, los iones K+ pasarán a través de la membrana, pero los iones negativos no podrán seguirlos. El resultado neto consistirá en un exceso de cargas positivas en el medio extracelular y un exceso de cargas negativas en el medio intracelular. Este fenómeno generará un potencial de membrana que tiende a atraer nuevamente a los iones K+ hacia el interior de la célula. En estado de equilibrio el efecto del gradiente de concentración de K+ es exactamente equilibrado por el efecto del potencial de membrana, lo que implica que el movimiento neto de K+ será nulo.



(A) Canal de K^+ cerrado, potencial de membrana = 0; la concentración de K^+ es mayor en el interior que en el exterior de la célula, pero la carga neta a ambos lados de la membrana equivale a cero (las cargas positivas y negativas están exactamente equilibradas)

(B) Canal de K^+ abierto; el K^+ se desplaza hacia el exterior dejando atrás iones negativos y esta nueva distribución de las cargas genera un potencial de membrana que contrarresta la tendencia del K^+ a pasar al exterior de la célula

brio en la que el potencial de membrana posee fuerza suficiente para contrarrestar la tendencia del K+ a desplazarse a favor de su gradiente de concentración, es decir un estado donde el gradiente electroquímico para el K+ equivale a cero, aun cuando la concentración de K+ sigue siendo mucho mayor en el interior que en el exterior de la célula (Fig. 12-29).

El *potencial de membrana en reposo* es el potencial de membrana imperante en esta condición de equilibrio en la que el flujo de iones positivos y negativos a través de la membrana plasmática se encuentra exactamente equilibrado, por lo tanto, no se acumulará ninguna diferencia de carga adicional a través de la membrana. El potencial de membrana se mide como una diferencia de voltaje a través de la membrana. En las células animales, el potencial de membrana en reposo varía entre -20 y -200 milivoltios (mV) según el organismo y el tipo celular considerados. Este parámetro se expresa como valor negativo debido a que el interior de la célula es negativo con respecto al exterior (las cargas intracelulares negativas predominan ligeramente en relación con las cargas positivas). El valor real del potencial de membrana en reposo en las células animales refleja sobre todo el gradiente de concentración de K+ a través de la membrana plasmática, dado que en el estado de reposo esta membrana es permeable sobre todo al K+ que es el principal catión intracelular. Una fórmula sencilla conocida como **ecuación de Nernst** (Fig. 12-30) expresa el equilibrio en forma cuantitativa y permite calcular el potencial de membrana en reposo teórico, siempre que se conozca la relación de concentraciones iónicas entre el interior y el exterior de la célula.

la fuerza que tiende a impulsar un ion a través de una membrana consta de dos componentes: uno debido al potencial de membrana eléctrico y el otro debido al gradiente de concentración. En estado de equilibrio estas dos fuerzas se contrarrestan en forma exacta y satisfacen una relación matemática simple expresada por la

ecuación de Nernst

$$V = 62 \log_{10} (C_o/C_i)$$

donde V es el potencial de membrana en milivoltios y C_o y C_i son las concentraciones del ion en el exterior y el interior, respectivamente, de la célula. Esta forma de la ecuación da por sentado que el ion es portador de una sola carga positiva y que la temperatura es de 37°C.

Figura 12-30. Puede utilizarse la ecuación de Nernst para calcular el potencial de reposo de una membrana.

Ahora supongamos que en la membrana plasmática en estado de reposo se abren repentinamente otros canales permeables a algún otro ión, por ejemplo, el Na+. Dado que la concentración de Na+ es mayor en el exterior que en el interior de la célula, el Na+ pasará al interior de la célula a través de estos canales y ello reducirá la negatividad del potencial de membrana e incluso podría convertirlo en positivo (es decir, el interior de la célula sería positivo con respecto al medio extracelular). En este caso, el potencial de membrana adoptará un nuevo valor que representará un término medio entre el valor negativo que correspondería al equilibrio para el K+ y el valor positivo que correspondería al equilibrio para el Na+. Por consiguiente, cualquier modificación de la permeabilidad de la membrana a iones específicos, es decir cualquier cambio de la cantidad de distintos tipos de canales iónicos abiertos, determina un cambio del potencial de membrana. En consecuencia, el potencial de membrana depende del estado de los canales iónicos y de las concentraciones de los iones en el citosol y en el medio extracelular. Sin embargo, el hecho de que los procesos eléctricos de la membrana plasmática se produz-

can con mucha mayor rapidez que los cambios de las concentraciones globales de los iones determina que, en el corto plazo (milisegundos a segundos o minutos), el factor de mayor importancia para el control del potencial de membrana esté representado por los canales iónicos.

Para comprender la forma en que se utiliza la interacción entre el potencial de membrana y los canales iónicos en el proceso de señalización eléctrica desviaremos la atención del comportamiento de los iones y los canales iónicos y pasaremos a considerar el comportamiento de la célula en su totalidad. Para ello recurriremos a las células nerviosas como ejemplo ilustrativo, dado que en ellas los procesos de señalización eléctrica y utilización de los canales iónicos alcanzaron un grado de complejidad y perfección que no se observa en ningún otro tipo celular.

CANALES IÓNICOS Y TRANSMISIÓN DE SEÑALES EN LAS CÉLULAS NERVIOSAS

La función fundamental de una célula nerviosa o neurona consiste en recibir, conducir y transmitir señales. Las neuronas transmiten señales desde los órganos sensitivos hacia el sistema nervioso central, es decir, el cerebro y la médula espinal. En el sistema nervioso central las señales se transmiten de una neurona a otra mediante redes de enorme complejidad que permiten que el cerebro y la médula espinal analicen e interpreten las señales provenientes de los órganos de los sentidos para luego responder a ellas en forma apropiada. Desde el sistema nervioso central las neuronas proyectan prolongaciones hacia la periferia a fin de transmitir señales que controlen la actividad de los músculos y las glándulas. Para poder cumplir estas funciones las neuronas con frecuencia emiten prolongaciones muy largas; por ejemplo, las neuronas motoras humanas que transmiten señales desde la médula espinal hasta un músculo del pie pueden medir hasta un metro de longitud.

Todas las neuronas están compuestas por un *cuerpo celular* (que contiene el núcleo) del cual irradia hacia la periferia una cantidad variable de extensiones finas y largas. Por lo general, una neurona posee un **axón** largo, que conduce las señales desde el cuerpo celular hacia células diana más alejadas, y varias prolongaciones ramificadas más cortas, denominadas *dendritas*, que se extienden desde el cuerpo celular como antenas y aumentan la superficie disponible para recibir señales provenientes de los axones de otras neuronas (Fig. 12-31). El extremo distal del axón se subdivide en numerosas ramas y cada una de estas ramas a su vez finaliza en una **terminación nerviosa**, de manera que el mensaje enviado por una neurona puede transmitirse en forma simultánea a muchas células diana, que pueden ser otras neuronas o células musculares o glandulares. Asimismo, las dendritas pueden presentar ramificaciones muy extensas que en algunos casos permiten que una sola neurona pueda recibir hasta 100.000 impulsos nerviosos.

Independientemente del significado de la señal que transporte una neurona, es decir, se trate de información visual proveniente del ojo, de una orden motora a un músculo o de un paso de una red compleja de comunicación nerviosa en el cerebro, el formato de la señal es siempre el mismo y consiste en cambios del potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de la neurona.

PREGUNTA 12-5

A partir de las concentraciones presentadas en el cuadro 12-1 (p. 388), calcule el potencial de membrana de equilibrio para el K^+ y el Na^+ (suponga que la concentración intracelular de Na^+ es de 10 nM). ¿Qué potencial de membrana tendría una célula en reposo? Fundamente su respuesta. ¿Qué sucedería si de repente se abriesen numerosos canales de Na^+ que determinaran que la membrana fuera mucho más permeable al Na^+ que al K^+? (Nótese que, como se requiere una escasa cantidad de iones para alterar radicalmente la distribución de las cargas a ambos lados de la membrana, debe suponer que las concentraciones de iones a ambos lados de la membrana no se modifican de manera significativa). ¿Qué piensa que ocurriría si los canales de Na^+ se cerraran otra vez?

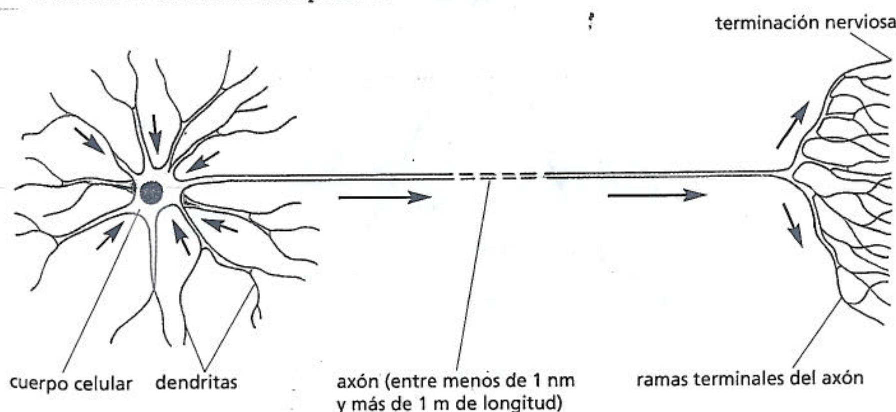


Figura 12-31. Una neurona típica consta de un cuerpo celular, un axón y múltiples dendritas. El axón conduce las señales desde el cuerpo celular hacia sus células diana, mientras que las múltiples dendritas reciben señales provenientes de los axones de otras neuronas. Las flechas rojas señalan la dirección en la que se transmiten las señales.

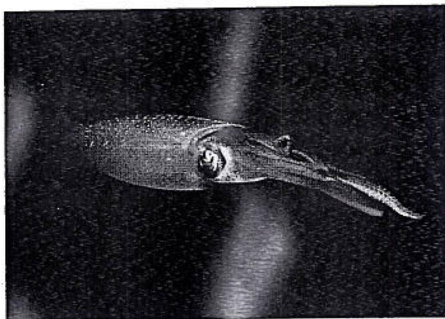


Figura 12-32. El calamar *Loligo* posee una célula nerviosa de gran tamaño con un axón gigante que le permite responder con rapidez a las condiciones ambientales amenazantes. Mucho antes de que la técnica del registro de zona permitiera obtener trazados de canales aislados en células pequeñas, los científicos lograron registrar potenciales de acción en el axón gigante de calamar e inferir la existencia de canales iónicos en sus membranas. (Cortesía de Howard Hall, con autorización de Oxford Scientific Films).

Los potenciales de acción permiten una comunicación rápida a larga distancia

Una neurona es estimulada por una señal, en general procedente de otra neurona, transmitida a una región localizada de su superficie. Esta señal induce una modificación del potencial de membrana en el sitio estimulado. No obstante, para poder seguir transmitiendo la señal, la alteración del potencial de membrana debe propagarse desde esta región, localizada sobre una dendrita o sobre el cuerpo celular, hacia las terminaciones axónicas, las que transmiten la señal a las otras neuronas de la vía nerviosa. Si bien un cambio local del potencial de membrana se propagará en forma pasiva a lo largo de un axón o una dendrita hacia regiones vecinas de la membrana plasmática, este potencial eléctrico se debilita con rapidez a medida que se aleja del sitio de origen. En caso de distancias cortas este debilitamiento no reviste mayor importancia, pero para la comunicación a larga distancia esta *propagación pasiva* es inapropiada. Este fenómeno es comparable con el de una señal telefónica, que puede transmitirse mediante cables sin necesidad de amplificarla en el radio de una ciudad, pero requiere refuerzos periódicos para la transmisión transoceánica mediante un cable submarino.

Las neuronas tienen un mecanismo de señalización activo: un estímulo local que posee una fuerza suficiente desencadena una explosión de actividad eléctrica en la membrana plasmática que se propaga con rapidez a lo largo de la membrana axónica y se mantiene mediante un refuerzo automático durante todo el trayecto. Esta onda migratoria de excitación eléctrica, conocida como potencial de acción o *impulso nervioso*, puede transmitir un mensaje desde el extremo de una neurona a otra sin que se debilite la señal a una velocidad de hasta 100 metros por segundo.

Las primeras investigaciones que establecieron el mecanismo de transmisión de señales eléctricas a lo largo de axones nerviosos se llevaron a cabo en el axón gigante del calamar (Fig. 12-32), que tiene un diámetro de tal magnitud que permite registrar su actividad eléctrica mediante la inserción directa de un electrodo en su interior (véase Biología experimental, pp. 412-413). De estos estudios se dedujo que los potenciales de acción son consecuencias directas de las propiedades de los canales iónicos regulados por voltaje (véase Fig. 12-24A) en la membrana de las células nerviosas, como se verá a continuación.

Los potenciales de acción en general están mediados por canales de Na+ regulados por voltaje

El potencial de acción de una neurona, en general, es desencadenado por la *despolarización* local repentina de la membrana plasmática, es decir, por la desviación del potencial de membrana hacia un valor menos negativo. Más adelante comentaremos la forma en que esta despolarización es causada por la acción de moléculas de señalización, denominadas *neurotransmisores*, liberadas por otra neurona. Un estímulo que induce una despolarización suficiente como para supe-

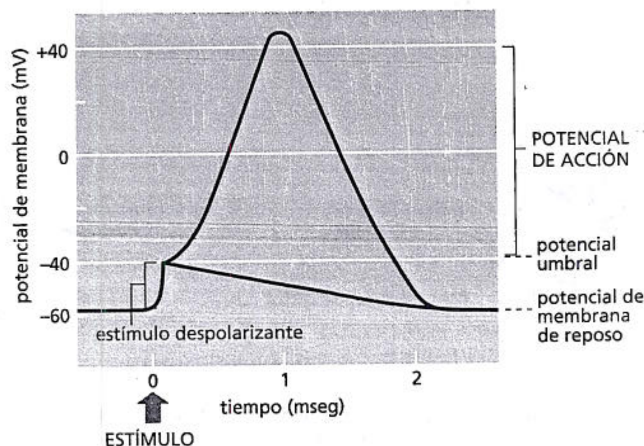


Figura 12-33. El potencial de acción es desencadenado por un cambio rápido del potencial de membrana. El potencial de membrana en reposo de esta neurona es de -60 mV. El potencial de acción se desencadena cuando un estímulo despolariza la membrana plasmática en alrededor de 20 mV; este fenómeno determina que el potencial de membrana sea de -40 mV, es decir el valor umbral para desencadenar un potencial de acción en esta célula. Una vez desencadenado el potencial de acción la membrana continúa despolarizándose con rapidez: el potencial de membrana sobrepasa el cero y llega rápidamente a +40 mV antes de retornar a su valor de reposo negativo. La *línea verde* indica la forma en que después del estímulo despolarizante inicial el potencial de membrana habría retornado simplemente a su valor de reposo si la membrana plasmática no hubiera tenido canales iónicos regulados por voltaje.

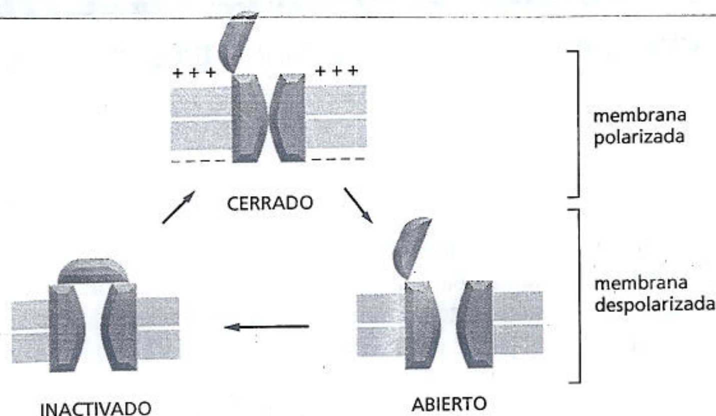


Figura 12-34. Un canal de Na^+ regulado por voltaje puede adoptar por lo menos tres conformaciones. El canal puede fluctuar de una conformación a otra según el potencial de membrana. Cuando la membrana está en reposo (muy polarizada), la conformación cerrada es la más estable. En cambio, cuando la membrana está despolarizada la conformación más estable es la abierta, de modo que existe una alta probabilidad de apertura del canal; no obstante, en la membrana despolarizada la conformación inactivada es aun más estable, de modo que después de un breve período transcurrido en la conformación abierta el canal se inactiva y no puede abrirse. Las *flechas rojas* indican la secuencia que se produce después de una despolarización repentina y la *flecha negra* indica la recuperación de la conformación original después de la repolarización de la membrana.

rar cierto valor umbral determina una apertura rápida y transitoria de los canales de Na^+ regulados por voltaje en el sitio despolarizado, lo que a su vez permite que una pequeña cantidad de Na^+ ingrese en la célula a favor de su gradiente electroquímico. El ingreso de cargas positivas aumenta el grado de despolarización de la membrana (es decir, determina que el potencial de membrana sea aun menos negativo), lo que induce la apertura de nuevos canales de Na^+ regulados por voltaje que posibilitan el ingreso de nuevos iones de Na^+ y aumentan todavía más el grado de despolarización. Este proceso se autoamplifica en forma continua hasta que, en el transcurso de alrededor de un milisegundo, el potencial de membrana en el área local de la membrana pasa de su valor inicial en reposo de aproximadamente -60 mV a un valor cercano a los +40 mV (Fig. 12-33). Este voltaje es similar al potencial de membrana en el cual la fuerza electroquímica impulsora del desplazamiento de Na^+ a través de la membrana equivale a cero, es decir, aquel en cuya presencia los efectos del potencial de membrana y el gradiente de concentración para el Na^+ son fuerzas iguales de signo opuesto, lo que implica que el Na^+ no tenderá a entrar ni salir de las células. En este punto, si los canales iónicos continuaran respondiendo indefinidamente de la misma manera a la alteración del potencial de membrana la célula permanecería con todos sus canales de Na^+ regulados por voltaje predominantemente abiertos.

Esta situación no ocurre porque los canales de Na^+ tienen un mecanismo de inactivación automático que determina que adopten con rapidez (en el transcurso de alrededor de un milisegundo) una conformación inactiva especial que impide que el canal se abra otra vez: aún cuando la membrana siga despolarizada, los canales de Na^+ permanecerán en este *estado inactivado* hasta algunos milisegundos después de que el potencial de membrana recupere su valor negativo inicial. En la figura 12-34 se ilustran en forma esquemática estos tres estados diferentes de

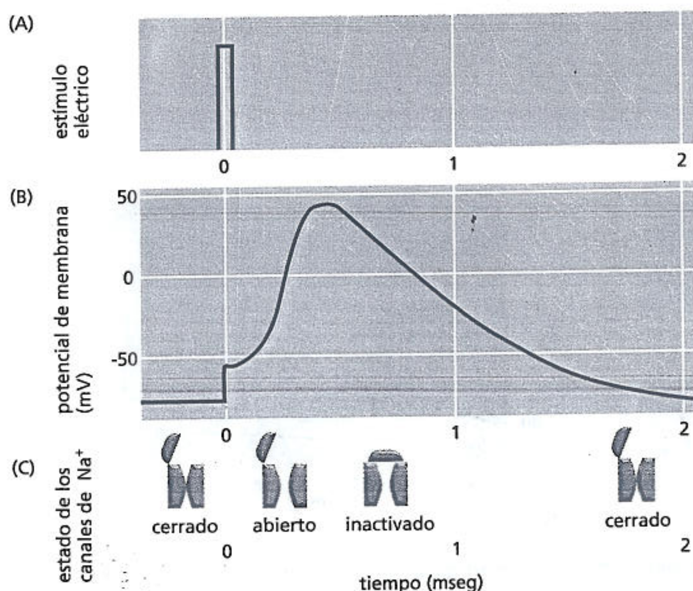


Figura 12-35. El flujo de iones determina la elevación y la caída de un potencial de acción. En este ejemplo el potencial de acción es desencadenado por un pulso breve de corriente eléctrica (A), que despolariza parcialmente la membrana, como se observa en el gráfico de potencial de membrana en función del tiempo (B). (B) ilustra la evolución del potencial de acción generado por la apertura y la inactivación ulterior de canales de Na^+ regulados por voltaje, cuyo estado se muestra en (C). Aun cuando la membrana se estimule nuevamente no puede generar un segundo potencial de acción hasta que los canales de Na^+ hayan pasado del estado inactivado a la conformación cerrada (véase Fig. 12-34); hasta entonces la membrana es resistente o refractaria a la estimulación.

EL CALAMAR REVELA SECRETOS RELACIONADOS CON LA EXCITABILIDAD DE LA MEMBRANA

Todas las primaveras el calamar *Loligo pealei* migra hacia las aguas poco profundas frente a Cape Cod sobre la costa este de los Estados Unidos, en donde desova y deposita la siguiente generación de calamares. Sin embargo, además de encontrarse y procrear, estos animales ofrecen a numerosos neurocientíficos de Marine Biological Laboratories de Woods Hole, Massachusetts, una excelente oportunidad de estudiar los mecanismos de señalización eléctrica a lo largo de los axones nerviosos.

Al igual que la mayoría de los animales, el calamar sobrevive capturando presas y huyendo de sus predadores. Los reflejos, la capacidad de acelerar con rapidez y cambiar bruscamente de dirección lo ayudan a evitar los peligros mientras se procura el alimento. La velocidad y la agilidad del calamar se deben a un sistema de propulsión biológica especializado: atrae agua hacia la cavidad del manto y luego contrae la pared muscular del cuerpo para expeler el agua aspirada a través de un sifón tubular, que lo propulsa a través del agua.

El control de estas contracciones musculares rápidas y sincronizadas requiere un sistema nervioso capaz de transmitir señales a gran velocidad a lo largo del cuerpo de calamar. En realidad, *Loligo pealei* posee algunas de las fibras nerviosas de mayor calibre conocidas. Los axones gigantes de los calamares pueden alcanzar los 10 cm de longitud y su diámetro es alrededor de 100 veces mayor que el del axón de un mamífero (comparable con el diámetro de la mina de un lápiz de grafito). En términos generales, cuanto mayor sea el diámetro del axón mayor será la rapidez con la que viajen las señales a lo largo del mismo.

En la década de 1930 los científicos comenzaron a aprovechar el axón gigante del calamar para estudiar la electrofisiología de la célula nerviosa. El gran tamaño del axón permite insertar electrodos en su interior para medir la actividad eléctrica y seguir la evolución de los potenciales de acción. Este sistema de experimentación ayudó a que los investigadores respondan una diversidad de interrogantes relacionados con la conductancia de la membrana en las neuronas, como cuáles son los iones importantes para la iniciación y la propagación de un potencial de acción, cómo se modifica la permeabilidad de la membrana con el pasaje de un potencial de acción y de qué manera estas modificaciones del potencial de membrana contribuyen al control de la apertura y el cierre de los canales iónicos.

Preparativos para la acción

El hecho de que el axón de calamar sea tan largo y ancho permite insertar un electrodo construido a partir de un tubo capilar de vidrio que contenga una solución conductora a lo largo de su eje de manera que la punta del electrodo se enclave profundamente en el citoplasma celular (**Fig. 12-36A**). Esta configuración permite medir la diferencia de voltaje entre el interior y el exterior del axón –es decir el potencial de membrana– en el momento en que un potencial de acción pasa a través de la punta del electrodo (**Fig. 12-36B**). El potencial de acción propiamente dicho es desencadenado mediante la aplicación de un estímulo eléctrico breve en el extremo del axón. En realidad no importa cuál sea el extremo estimulado porque el estímulo excitador puede transmitirse en ambas direcciones; la intensidad del estímulo tampoco reviste mayor importancia siempre que supere cierto umbral, dado que un potencial de acción obedece a la ley del todo o nada.

Una vez que los científicos lograron generar y medir un potencial de acción pudieron utilizar el sistema del axón de calamar para investigar otros aspectos de la excitabilidad de membrana. Por ejemplo, los iones vitales para la creación de un potencial de acción. Los tres iones más abundantes, tanto en el interior como en el exterior del axón, son el Na^+, el K^+ y el Cl^-. ¿Estos iones poseen una importancia equivalente en lo que respecta al potencial de acción? El hecho de que el axón del calamar sea tan grande y ancho permite exprimir el citoplasma como si se sacara pasta dentífrica de un tubo (**Fig. 12-37A**) y luego perfundir el

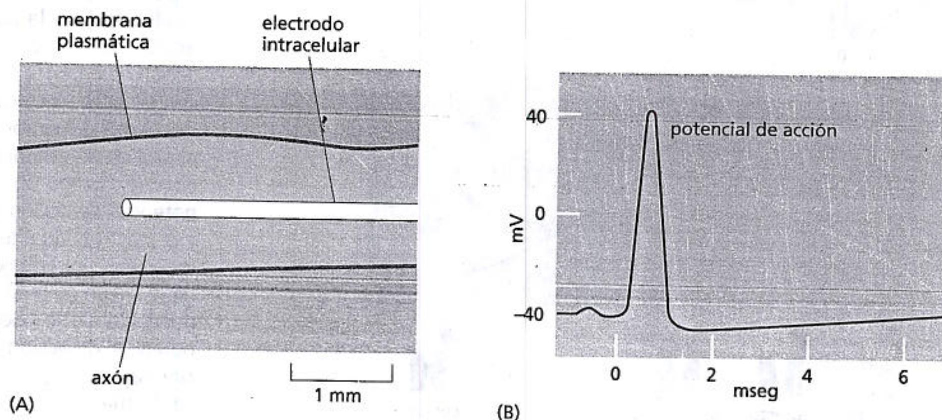


Figura 12-36. Puede insertarse un electrodo en el axón gigante del calamar (A) para medir potenciales de acción (B).

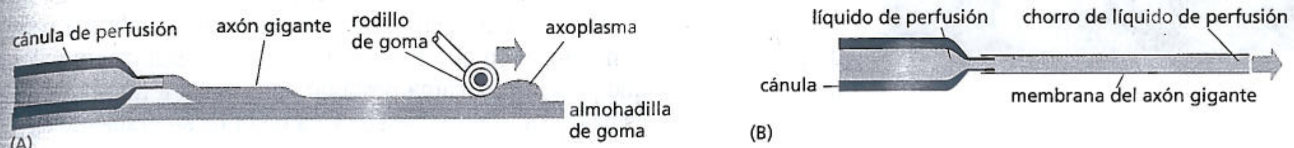


Figura 12-37. El citoplasma de un axón se puede extraer y reemplazar por una solución artificial de iones puros. (A) El citoplasma del axón se extruye mediante un rodillo de goma. (B) Se bombea suavemente en el interior del axón un líquido de perfusión que contenga la concentración deseada de iones.

interior del axón con una solución pura de Na^+, K^+, Cl^- o SO_4^{2-} (Fig. 12-37B); los iones en la solución pueden ser variados en forma independiente. Sorprendentemente, los investigadores que realizaron estos estudios descubrieron que el axón genera un potencial de acción normal sólo si las concentraciones de Na^+ y K^+ se asemejan a las concentraciones presentes en el interior y el exterior de la célula. Por lo tanto, los elementos celulares esenciales para el potencial de acción comprenden la membrana plasmática, los iones Na^+ y K^+ y la energía provista por los gradientes de concentración de estos iones a través de la membrana, dado que presuntamente la perfusión fue desprovista de cualquier otro componente, incluidas otras fuentes probables de energía metabólica.

Tránsito a través de canales

Después de establecer que los iones Na^+ y K^+ eran esenciales para la creación de un potencial de acción fue necesario determinar en qué medida cada uno de estos iones contribuía al potencial de acción, cuál era el grado de permeabilidad de la membrana a cada uno de ellos y de qué manera se modificaba la permeabilidad de la membrana a medida que transcurría el potencial de acción. El axón gigante del calamar también aportó respuestas a algunos de estos interrogantes. Las concentraciones de Na^+ y K^+ en el exterior de la membrana podían modificarse y este procedimiento permitió medir directamente los efectos que estas modificaciones ejercían sobre el potencial de membrana. Los resultados de estos estudios revelaron que, en reposo, el potencial de membrana de un axón se aproxima al potencial de equilibrio para el K^+. Después de variar la concentración externa de K^+ se observó que el potencial de reposo del axón se modificaba aproximadamente en concordancia con la ecuación de Nernst (véase Fig. 12-29). En consecuencia, en condiciones de reposo la membrana es predominantemente permeable al K^+; en la actualidad sabemos que las principales vías que pueden seguir estos iones para atravesar la membrana celular están representadas por los canales de fuga de K^+.

El caso del Na^+ es muy diferente. Después de variar la concentración externa de Na^+ no se observa ningún efecto sobre el potencial de acción en reposo. Sin embargo, la altura del pico del potencial de acción varía en función de la concentración de Na^+ por fuera de la membrana (Fig. 12-38). Por consiguiente, durante el potencial de acción la membrana parece ser predominantemente permeable al Na^+ como resultado de la apertura de los canales de Na^+. Después de la declinación del potencial de acción los canales de Na^+ se cierran y el potencial de membrana revierte a un valor negativo que depende de la concentración externa de K^+. A medida que la membrana deja de ser permeable al Na^+ se torna más permeable que antes al K^+. La apertura de canales de K^+ adicionales contribuye a acelerar el retorno del potencial de membrana al estado de reposo. Este proceso prepara la membrana para el siguiente potencial de acción.

Estos estudios sobre el axón gigante del calamar contribuyeron enormemente a la comprensión de la excitabilidad neuronal y los investigadores que establecieron este sistema de experimentación fueron galardonados con el Premio Nobel en 1963.

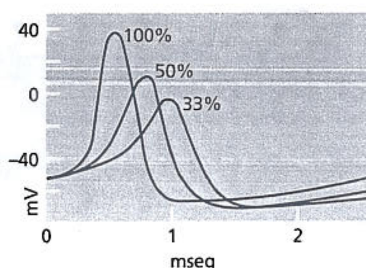


Figura 12-38. La configuración del potencial de acción depende de la concentración de Na^+ por fuera de la membrana. La figura muestra los potenciales de acción registrados con medios externos que contienen un 100%, un 50% o un 33% de la concentración normal de Na^+.

PREGUNTA 12-6

Explique en no más de 100 palabras cómo se propaga un potencial de acción a lo largo del axón.

los canales de Na+ regulados por voltaje (*cerrado, abierto* e *inactivado*) y en la figura 12-35 se muestra la forma en que estos estados se correlacionan con el aumento y la caída del potencial de acción.

El retorno del potencial de membrana a su valor de reposo también depende de la apertura de los *canales de* K+ *regulados por voltaje.* Estos canales también se abren en respuesta a la despolarización de la membrana, pero su apertura es más lenta que la de los canales de Na+ y permanecen abiertos mientras la membrana permanece despolarizada. En el momento en que el potencial de acción alcanza un valor máximo, los iones K+ (que poseen una carga positiva) comienzan a fluir hacia el medio extracelular a través de los canales de fuga de K+ a favor de su gradiente electroquí-

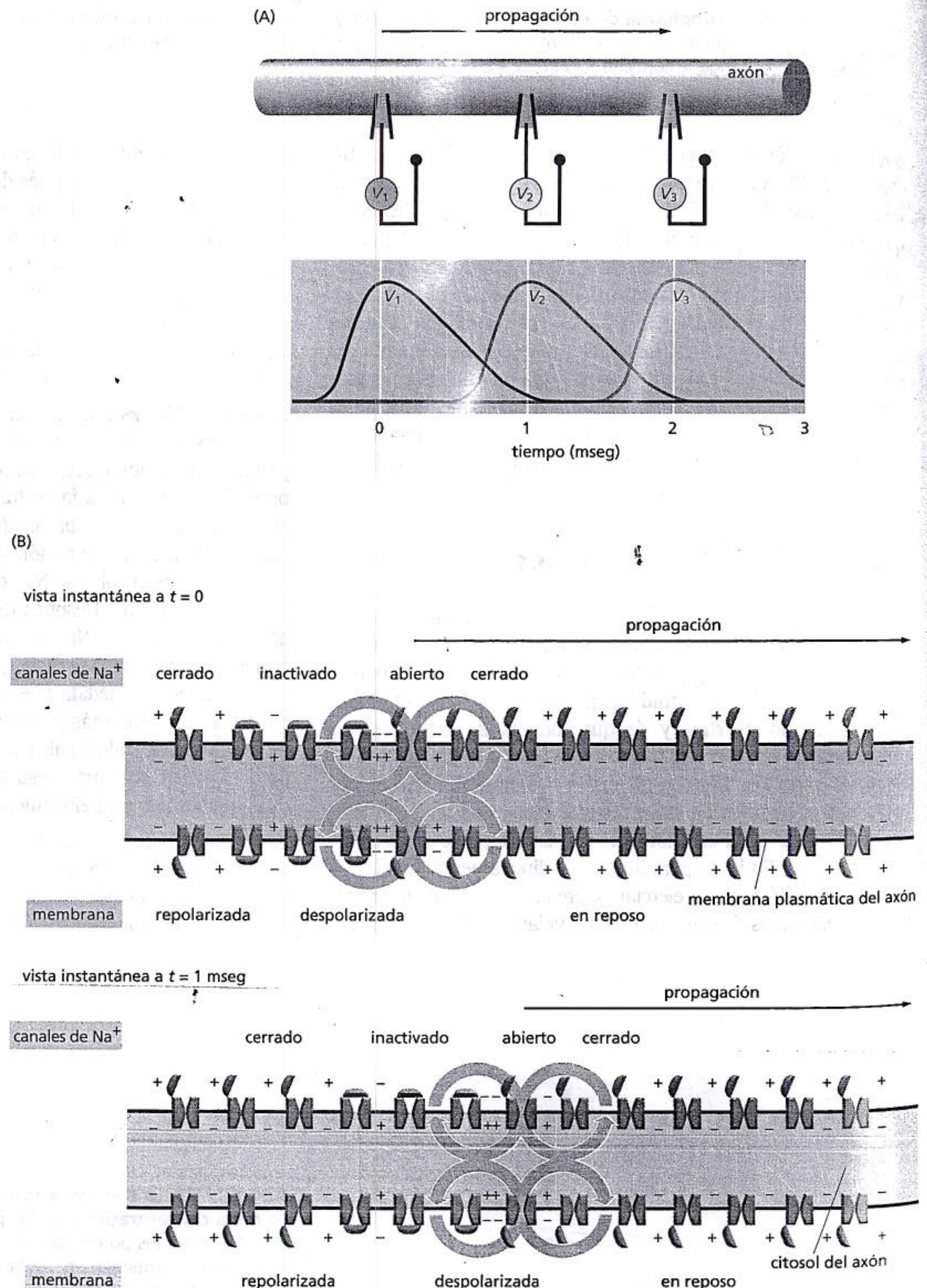
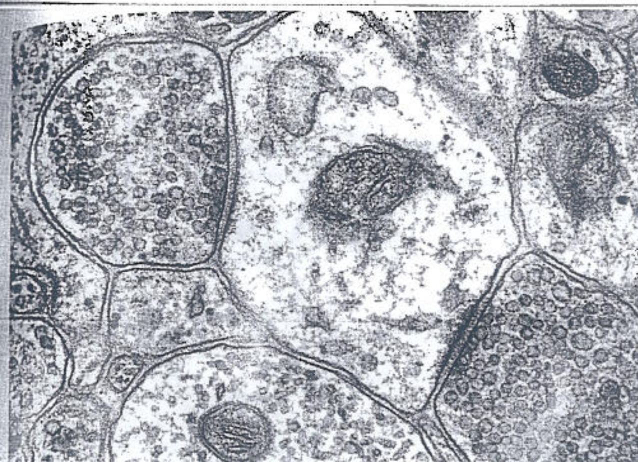


Figura 12-39. Un potencial de acción puede propagarse a lo largo de un axón. (A) Este esquema muestra los voltajes (V_1, V_2 y V_3) que serían registrados por un conjunto de electrodos intracelulares colocados a intervalos a lo largo del axón, cuyo diámetro ha sido muy exagerado en este esquema. Obsérvese que el potencial de acción no se debilita a medida que transcurre por el axón. El estímulo que produce la activación se administra en el tiempo $t = 0$ y se indica con la *flecha roja* la dirección en la que se transmite el potencial de acción.
(B) Cambios de los canales de Na+ y los flujos de corriente eléctrica a través de la membrana *(flechas anaranjadas)* que determinan las perturbaciones durante la migración del potencial de membrana (Película 12.8). La región del axón con una membrana despolarizada está sombreada en azul. Obsérvese que un potencial de acción sólo puede alejarse del sitio de despolarización porque la inactivación de los canales de Na+ impide que la despolarización se propague en dirección retrógrada (véase también Fig. 12-35).



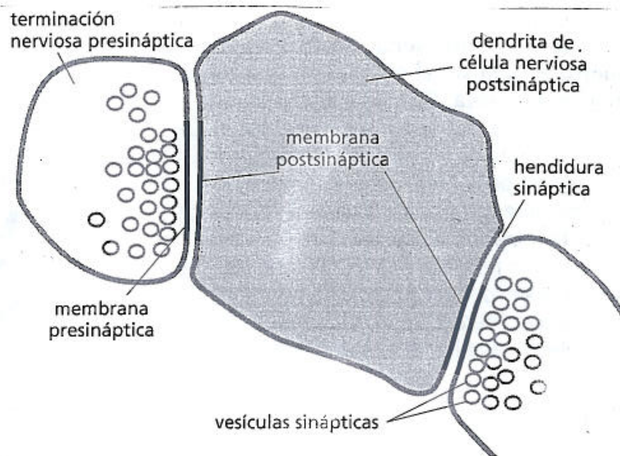


Figura 12-40. Las neuronas transmiten señales químicas a través de las sinapsis. Microfotografía electrónica (A) y dibujo (B) del corte transversal de dos terminales nerviosas (*amarillo*) que forman sinapsis sobre una única dendrita de una célula nerviosa (*azul*) en el cerebro de un mamífero. Obsérvese que en el sitio de la sinapsis se observa un aumento del espesor tanto de la membrana presináptica como de la membrana postsináptica. (A, cortesía de Cedric Raine).

mico, momentáneamente liberados del potencial negativo que los confinaba en el medio intracelular en la célula en reposo. El flujo rápido de iones K^+ hacia el exterior de la célula a través de canales de K^+ regulados por voltaje determina que la membrana recupere el estado de reposo con mayor rapidez que la que se alcanzaría si el K^+ saliera exclusivamente a través de los canales de fuga de K^+.

Esta descripción de un potencial de acción se refiere solamente a una pequeña zona de la membrana plasmática. No obstante, la despolarización autoamplificada de esta fracción es suficiente para despolarizar las regiones adyacentes de la membrana, las que ingresan en un ciclo de autoamplificación similar. Este proceso permite que el potencial de acción se propague como una onda migratoria desde el sitio de la despolarización inicial y alcance finalmente los extremos del axón (Fig. 12-39). Ante las consecuencias de los flujos de Na^+ y K^+ causados por la propagación del potencial de acción, las moléculas locales de Na^+-K^+ ATPasa trabajan continuamente restableciendo los gradientes iónicos a través de la membrana plasmática del axón.

Los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje convierten las señales eléctricas en señales químicas en las terminaciones nerviosas

En el momento en que el potencial de acción llega a los extremos del axón, es decir a las *terminaciones nerviosas*, la señal debe transmitirse de alguna manera a las *células diana* con las que entran en contacto y que, por lo general, consisten en otras neuronas o células musculares. La señal se transmite en sitios de contacto especializados denominados **sinapsis**. En la mayoría de las sinapsis las membranas plasmáticas de las células transmisora y receptora, es decir de las células *presináptica* y *postsináptica*, respectivamente, están separadas por una *hendidura sináptica* estrecha (en general de 20 nm de ancho) que no puede ser atravesada por la señal eléctrica (Fig. 12-40). El mensaje puede transmitirse de una neurona a otra porque la señal eléctrica se convierte en una señal química que adopta la forma de una pequeña molécula de señalización conocida con el nombre de **neurotransmisor**.

Los neurotransmisores se almacenan en las terminaciones nerviosas en **vesículas sinápticas** recubiertas de membrana (véase Fig. 12-40). En el momento en que el potencial de acción llega a la terminación nerviosa, los neurotransmisores son liberados desde la terminación mediante exocitosis (véase capítulo 15). Esta relación entre el potencial de acción y la secreción requiere la activación de otro tipo

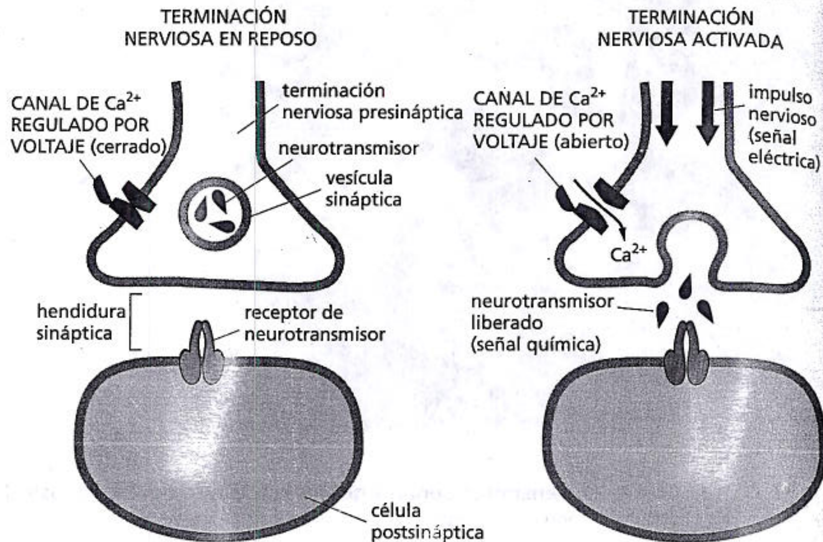


Figura 12-41. Una señal eléctrica se convierte en una señal química en una terminación nerviosa. Cuando el potencial de acción llega a una terminación nerviosa induce la apertura de canales de Ca^{2+} regulados por voltaje de la membrana plasmática, lo que permite que el Ca^{2+} fluya hacia el interior de la terminación. El aumento de Ca^{2+} en la terminación nerviosa estimula la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana plasmática, lo que libera los neurotransmisores intravesiculares en la hendidura sináptica.

de canal catiónico regulado por voltaje. La despolarización de la membrana plasmática de la terminación nerviosa inducida por la llegada del potencial de acción abre transitoriamente *canales de Ca^{2+} regulados por voltaje*, los que se concentran sobre todo en la membrana plasmática de la terminación nerviosa presináptica. Dado que la concentración extracelular de Ca^{2+} es más de 1.000 veces mayor que la concentración de Ca^{2+} libre en el citosol, los iones de Ca^{2+} se precipitan hacia el interior de la terminación nerviosa a través de los canales abiertos. El aumento resultante de la concentración de Ca^{2+} en el citosol de la terminación nerviosa desencadena la fusión de las vesículas sinápticas con la membrana plasmática presináptica, lo que determina la liberación del neurotransmisor en la hendidura sináptica. La señal eléctrica se convierte ahora en una señal química gracias a la participación de los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje (Fig. 12-41).

Los canales regulados por transmisores convierten nuevamente las señales químicas en señales eléctricas en las células diana

El neurotransmisor liberado difunde con rapidez a través de la hendidura sináptica y se une a *receptores de neurotransmisores* concentrados en la membrana postsináptica de la célula diana. La unión del neurotransmisor a sus receptores induce un cambio del potencial de membrana de la célula diana que puede desencadenar la descarga de un potencial de acción por parte de esta célula. El neurotransmisor se elimina con rapidez de la hendidura sináptica, ya sea por la acción

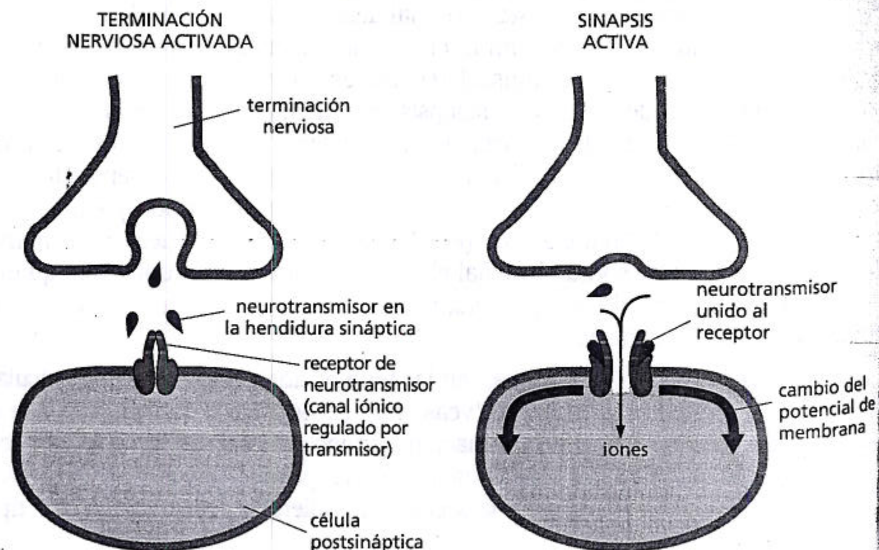


Figura 12-42. Una señal química se convierte en una señal eléctrica por canales iónicos regulados por transmisores en una sinapsis. El neurotransmisor liberado se une a canales iónicos regulados por transmisores presentes en la membrana plasmática de la célula postsináptica e induce la apertura de estos canales. El flujo de iones resultante modifica el potencial de membrana de la célula postsináptica, lo que convierte de nuevo la señal química en una señal eléctrica (Película 12.9).

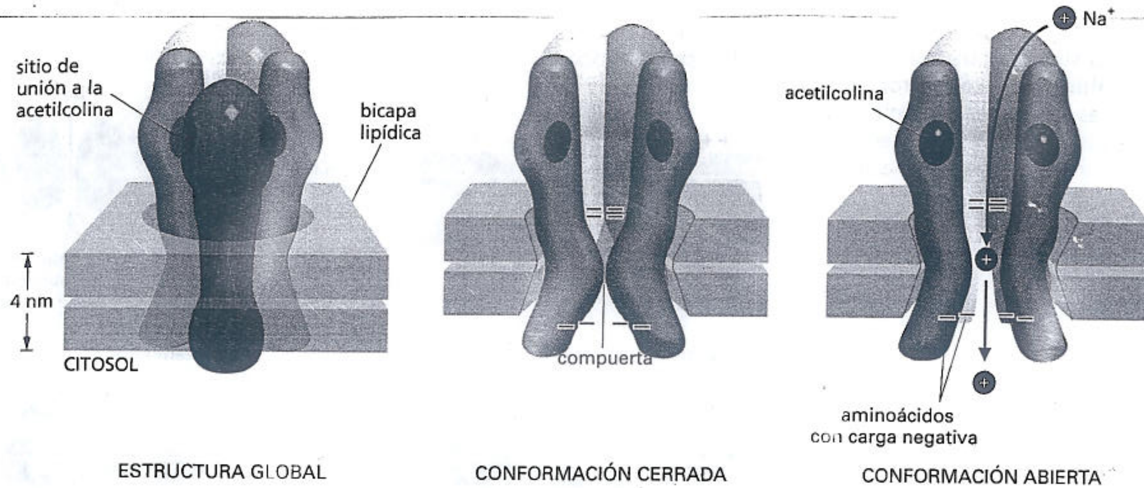


Figura 12-43. **El receptor de acetilcolina presente en la membrana plasmática de las células musculares se abre después de unirse al neurotransmisor acetilcolina, liberado por un nervio.** Este canal iónico regulado por transmisor está compuesto por cinco subunidades de proteína transmembrana que se combinan formando un poro acuoso a través de la bicapa lipídica. El poro está revestido por cinco hélices α transmembrana, cada una de ellas proveniente de una subunidad distinta. Las cadenas laterales de aminoácidos de carga negativa localizadas en ambos extremos del poro garantizan que solo puedan pasar iones con carga positiva, sobre todo Na^+ y K^+. Cuando el canal se encuentra en su conformación cerrada el poro está ocluido por cadenas laterales de aminoácidos hidrófobas en la región conocida con el nombre de *compuerta*; la fijación de la acetilcolina determina un cambio conformacional de la proteína en la que estas cadenas se separan y la compuerta se abre, lo que permite el flujo de iones Na^+ y K^+ a través de la membrana a favor de sus gradientes electroquímicos. Aun cuando esté unido a la acetilcolina, el canal fluctúa aleatoriamente entre los estados abierto y cerrado (véase Fig. 12-24), pero en ausencia de acetilcolina su apertura sería rara.

de enzimas que lo hidrolizan o por su recaptación hacia el interior de la terminación nerviosa que lo había liberado o de otras células vecinas. Esta eliminación rápida del neurotransmisor garantiza que la inactivación de la célula presináptica se acompañe de la inactivación de la célula postsináptica.

Los receptores de neurotransmisores pueden ser de diversos tipos; algunos median efectos relativamente lentos en las células diana mientras que otros desencadenan respuestas más rápidas. Las respuestas rápidas (dentro de una escala temporal de milisegundos) dependen de receptores que constituyen *canales iónicos regulados por transmisores*. Estos canales iónicos representan una subclase de canales iónicos regulados por ligando (véase Fig. 12-25B) y su principal función consiste en convertir la señal química transmitida por un neurotransmisor en una señal eléctrica. Estos canales se abren transitoriamente en respuesta a la unión del neurotransmisor, lo que altera la permeabilidad de la membrana postsináptica a los iones. A su vez, esta alteración induce una modificación del potencial de membrana (Fig. 12-42); si esta modificación es importante puede desencadenar un potencial de acción en la célula postsináptica. Un ejemplo bien estudiado de canal iónico regulado por transmisores está representado por la *unión neuromuscular*, un tipo de sinapsis especializada que se forma entre una neurona y una célula muscular. El neurotransmisor de la unión neuromuscular de los vertebrados es la *acetilcolina*, mientras que el canal iónico regulado por transmisores es el *receptor de acetilcolina* (Fig. 12-43).

Las neuronas reciben señales excitadoras e inhibidoras

La respuesta generada por un neurotransmisor en una sinapsis puede ser excitadora o inhibidora. Algunos neurotransmisores (liberados por terminaciones axónicas de *neuronas excitadoras*) determinan que la célula postsináptica inicie un potencial de acción mientras que otros (liberados por terminaciones axónicas de *neuronas inhibidoras*) evitan que se inicie un potencial de acción en dicha célula. El curare, un fármaco utilizado por los cirujanos para relajar los músculos durante una operación, induce parálisis mediante el bloqueo de la liberación de señales excitadoras en la unión neuromuscular, mientras que la estricnina (una sustancia venenosa) provoca espasmos musculares, convulsiones y la muerte mediante el bloqueo de la liberación de señales inhibidoras.

PREGUNTA 12-7

En la enfermedad miastenia gravis el cuerpo humano crea, por error, anticuerpos contra sus propias moléculas de receptores de acetilcolina. Estos anticuerpos se unen a los receptores de acetilcolina presentes en la membrana plasmática de las células musculares y los inactivan. La miastenia gravis causa un debilitamiento devastador y progresivo. En un estadio evolutivo temprano del trastorno estos pacientes pueden tener dificultades, por ejemplo, para abrir los párpados, y en un modelo animal de la enfermedad se observó que los conejos tienen dificultades para mantener erguidas las orejas. A medida que la enfermedad progresa la debilidad afecta la mayoría de los músculos y los pacientes comienzan a experimentar dificultades para hablar y deglutir. Por último, la incapacidad de respirar puede provocar la muerte. Explique qué paso de la función muscular está afectado en esta enfermedad.

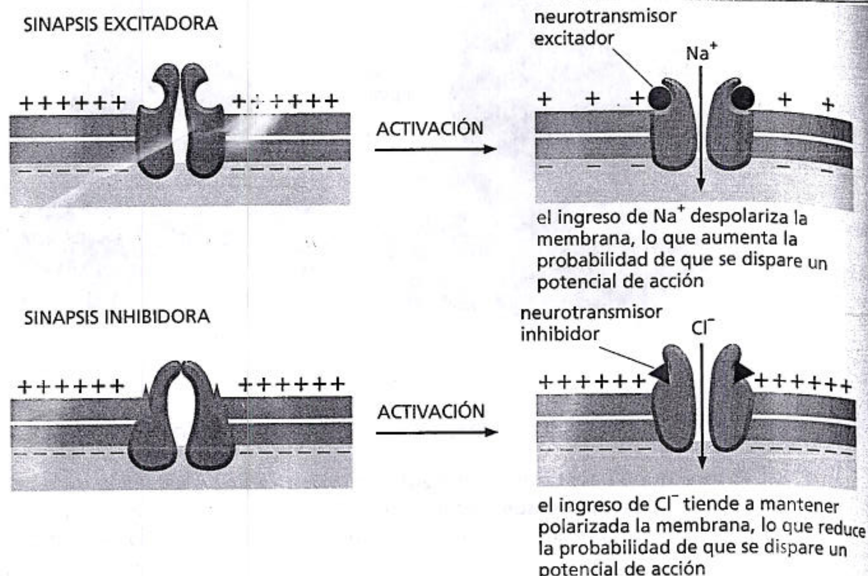


Figura 12-44. Las sinapsis pueden ser excitadoras o inhibidoras. Los neurotransmisores excitadores activan canales iónicos que permiten el paso de Na^+ y Ca^{2+} mientras que los neurotransmisores inhibidores activan los que permiten el paso de Cl^-.

Los neurotransmisores excitadores e inhibidores se unen a distintos receptores y el tipo de receptor es responsable de la diferencia entre la excitación y la inhibición. Los principales receptores de neurotransmisores excitadores, sobre todo de la *acetilcolina* y el *glutamato*, son canales iónicos que permiten el paso de Na^+ y Ca^{2+}, respectivamente. La unión del neurotransmisor a su receptor induce la apertura de los canales que permiten sobre todo el ingreso de Na^+, lo que determina la despolarización de la membrana plasmática hacia el potencial umbral necesario para desencadenar un potencial de acción. En consecuencia, la estimulación de estos receptores tiende a activar la célula postsináptica. Por el contrario, los receptores de los neurotransmisores inhibidores, principalmente el ácido *γ-aminobutírico (GABA)* y la *glicina*, son canales iónicos para el Cl^-. La unión de estos neurotransmisores a sus receptores induce la apertura de los canales. En este momento la cantidad de Cl^- que ingresa en la célula es muy escasa debido a que la fuerza que impulsa el movimiento de Cl^- a través de la membrana con un potencial de membrana de reposo es cercana a cero. Sin embargo, si al mismo tiempo se abren los canales de Na^+, que ingresa rápidamente en la célula y ello determina que el potencial de membrana se aleje de su valor de reposo. Esta alteración del potencial de membrana determina que el Cl^- pase al interior de la célula y neutralice el efecto del ingreso del Na^+ (Fig. 12-44). De esta manera los neurotransmisores inhibidores suprimen la generación de un potencial de acción al dificultar la despolarización de la membrana de la célula diana.

CUADRO 12-3. ALGUNOS EJEMPLOS DE CANALES IÓNICOS

CANAL IÓNICO	LOCALIZACIÓN TÍPICA	FUNCIÓN
Canal de fuga de K^+	Membrana plasmática de la mayor parte de las células animales	Mantenimiento del potencial de membrana de reposo
Canal de Na^+ regulado por voltaje	Membrana plasmática del axón de las células nerviosas	Generación de potenciales de acción
Canal de K^+ regulado por voltaje	Membrana plasmática del axón de las células nerviosas	Retorno de la membrana al potencial de reposo después de la iniciación de un potencial de acción
Canal de Ca^{2+} regulado por voltaje	Membrana plasmática de la terminación nerviosa	Estimulación de la liberación del neurotransmisor
Receptor de acetilcolina (canal de Na^+ y Ca^{2+} regulado por acetilcolina)	Membrana plasmática de la célula muscular (en la unión neuromuscular)	Señalización sináptica excitadora
Receptores de glutamato (canales de Na^+ y Ca^{2+} regulados por glutamato)	Membrana plasmática de muchas neuronas (en las sinapsis)	Señalización sináptica excitadora
Receptor de GABA (canal de Cl^- regulado por GABA)	Membrana plasmática de muchas neuronas (en las sinapsis)	Señalización sináptica inhibidora
Receptor de glicina (canal de Cl^- regulado por glicina)	Membrana plasmática de muchas neuronas (en las sinapsis)	Señalización sináptica inhibidora
Canal catiónico activado por estrés	Células ciliadas auditivas en el oído interno	Detección de vibraciones sonoras

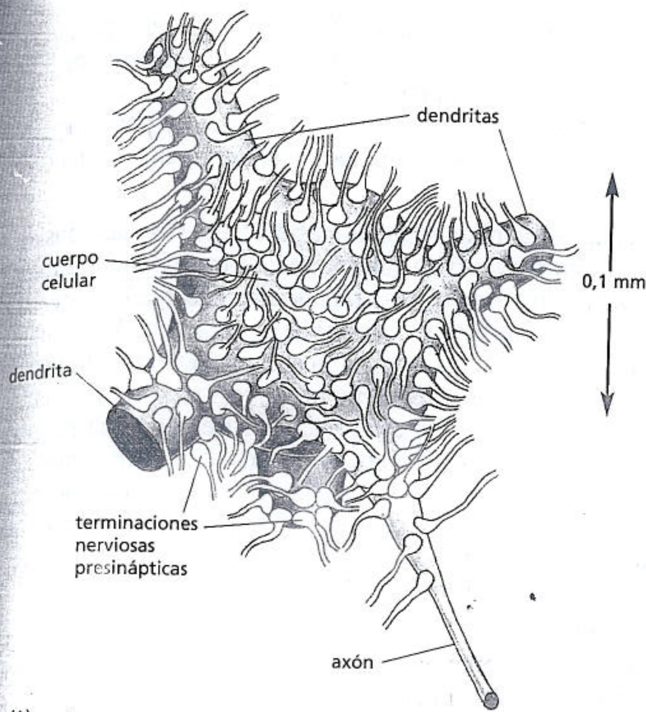




Figura 12-45. Sobre el cuerpo celular y las dendritas de una neurona motora de la médula espinal se establecen miles de sinapsis. (A) Varios miles de terminaciones nerviosas establecen sinapsis sobre la neurona y transmiten señales desde otras partes del animal que controlan la descarga de potenciales de acción a lo largo del axón de la neurona. (B) Célula de rata en cultivo. El cuerpo celular y las dendritas (*verde*) están marcados con un anticuerpo fluorescente que reconoce una proteína citoesquelética. Miles de terminaciones axónicas (*rojo*) provenientes de otras células nerviosas (no visibles) forman sinapsis sobre la superficie celular; estas terminaciones están teñidas con un anticuerpo fluorescente que reconoce una proteína en las vesículas sinápticas. Las señales eléctricas se transmiten a lo largo de los axones, se retransmiten a través de sinapsis y se dirigen hacia el cuerpo de la célula nerviosa a lo largo de las dendritas. La señalización depende de los flujos de iones a través de las membranas plasmáticas de las células nerviosas. (B, cortesía de Olaf Mundigl y Pietro de Camilli).

En el cuadro 12-3 se resumen la localización y las funciones de estos canales iónicos y de canales comentados en este capítulo.

Los canales iónicos regulados por transmisores representan sitios de acción importantes de los fármacos psicoactivos

La mayoría de los fármacos empleados para el tratamiento del insomnio, la ansiedad, la depresión y la esquizofrenia ejercen sus efectos en las sinapsis cerebrales y muchos de ellos actúan mediante la unión a canales iónicos regulados por transmisores. Los barbitúricos y ciertos tranquilizantes como el Valium®, el Halcion® y el temazepam, se unen a canales de Cl^- regulados por el GABA. La unión del fármaco al canal facilita la apertura del canal por el GABA, lo que a su vez aumenta la sensibilidad de la célula a la acción inhibidora del GABA. Por el contrario, el fármaco antidepresivo Prozac® bloquea la recaptación de un neurotransmisor excitador, la serotonina, lo que aumenta la cantidad de serotonina disponible en las sinapsis que utilizan este transmisor. Lo que aún no se sabe es por qué estos efectos conducen a una mejoría de la depresión.

Existen muchos tipos diferentes de receptores de neurotransmisores, aunque todos se pueden agrupar en una pequeña cantidad de familias. Por ejemplo, hay numerosos subtipos de receptores de acetilcolina, glutamato, GABA, glicina y serotonina que por lo general se localizan en distintas neuronas y con frecuencia difieren ligeramente en sus propiedades. Esta amplia variedad de receptores permitiría el descubrimiento de una nueva generación de fármacos psicoactivos que actúen en forma más selectiva sobre grupos específicos de neuronas para aliviar los trastornos mentales que interfieren gravemente sobre las funciones vitales de muchas personas. Por ejemplo, el 1% de la población humana padece esquizofrenia y otro 1% sufre de trastorno bipolar, y muchos más sufren de ansiedad o depresión.

Las conexiones sinápticas nos permiten pensar, actuar y recordar

En una sinapsis química la terminación nerviosa de la célula presináptica convierte una señal eléctrica en una señal química y la célula postsináptica reconvierte la señal química en una señal eléctrica. La interferencia sobre estos procesos, sea en

un sentido o en otro, reviste una enorme importancia práctica. Cabe preguntarse por qué la evolución favoreció una forma aparentemente tan ineficiente de transmitir una señal eléctrica. A primera vista parecería más conveniente la existencia de una conexión eléctrica directa entre las células presináptica y postsináptica o simplemente la eliminación completa de las sinapsis y el uso de una célula continua única.

La importancia de las sinapsis químicas se torna más evidente si se las considera en el contexto de un sistema nervioso en función, es decir una enorme red de neuronas interconectadas por numerosas vías ramificadas encargada de realizar cálculos complejos, almacenar recuerdos y generar planes de acción. Para cumplir estas funciones las neuronas no sólo deben ser capaces de generar y transmitir señales sino también de combinarlas, interpretarlas y registrarlas. Las sinapsis químicas hacen posibles estas actividades complejas. Por ejemplo, una neurona motora de la médula espinal recibe impulsos provenientes de cientos o miles de otras neuronas que establecen sinapsis con ella (Fig. 12-45). Algunas de estas señales tienden a estimular la neurona mientras que otras la inhiben. La neurona motora debe combinar toda la información que recibe y reaccionar ante ella mediante la descarga de potenciales de acción a lo largo de su axón para estimular un músculo o la permanencia en reposo.

Esta función que consiste en reaccionar en forma apropiada ante una multitud de impulsos diferentes depende de una interacción compleja entre distintos tipos de canales iónicos en la membrana plasmática de las neuronas. Cada uno de los cientos de tipos de neuronas presentes en el cerebro posee un conjunto característico de receptores y canales iónicos que le permite reaccionar de una forma particular ante un determinado conjunto de estímulos y de ese modo cumplir con sus funciones especializadas. Además, los canales iónicos y otros componentes de una sinapsis pueden experimentar modificaciones duraderas según las funciones que cumplieron previamente, lo que permite la preservación de huellas de sucesos pretéritos. Este mecanismo permite almacenar recuerdos. En consecuencia, los canales iónicos constituyen el corazón de la maquinaria que permite que usted actúe, piense, sienta y hable y, lo que tal vez sea más importante, recuerde todo lo que leyó en este libro.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La bicapa lipídica de las membranas celulares es permeable a moléculas pequeñas no polares como el oxígeno y el dióxido de carbono y a moléculas polares muy pequeñas como las moléculas de agua. La bicapa lipídica es sumamente impermeable a la mayoría de las moléculas hidrosolubles de gran tamaño y a todos los iones. La transferencia de nutrientes, metabolitos e iones a través de la membrana plasmática y las membranas internas de las células depende de proteínas de transporte de membrana.
- Las membranas celulares contienen una diversidad de proteínas de transporte; cada una de ellas determina la transferencia de un tipo particular de soluto a través de la membrana. Existen dos clases de proteínas de transporte de membrana, a saber, proteínas transportadoras y proteínas de canal.
- El gradiente electroquímico representa la fuerza impulsora neta ejercida sobre un ión y deriva del gradiente de concentración y el campo eléctrico para ese ión.
- El transporte pasivo consiste en el desplazamiento espontáneo de un soluto sin carga a favor de su gradiente de concentración y de un soluto con carga (un ion) a favor de su gradiente electroquímico. El transporte activo consiste en la transferencia de un soluto sin carga o un ión en contra de su gradiente de concentración o de su gradiente electroquímico mediante un proceso que requiere energía.
- Las proteínas transportadoras se unen a solutos específicos (iones inorgánicos, moléculas orgánicas pequeñas o ambos tipos de compuestos) y los transportan a través de la bicapa lipídica mediante un proceso de cambio conformacional de las proteínas que expone el sitio de unión con el soluto en primer lugar de un lado de la membrana y después del otro lado.

- Las proteínas transportadoras pueden actuar como bombas que permiten el transporte de un soluto cuesta arriba en contra de su gradiente electroquímico mediante energía derivada de la hidrólisis del ATP, el flujo cuesta abajo de iones Na^+ o H^+ o la energía lumínica.
- La bomba de Na^+-K^+ presente en la membrana plasmática de las células animales es una ATPasa que transporta activamente Na^+ hacia el exterior de la célula y K^+ hacia el interior, manteniendo un gradiente de Na^+ de alta magnitud a través de la membrana plasmática que se utiliza para impulsar otros procesos de transporte y transmitir señales eléctricas.
- Las proteínas de canal forman poros acuosos a través de la bicapa lipídica por los que pueden difundir los solutos. Mientras que el proceso de transporte mediado por proteínas transportadoras puede ser pasivo o activo, el transporte mediado por las proteínas de canal siempre es pasivo.
- Casi todas las proteínas de canal son canales iónicos selectivos que permiten que iones inorgánicos con el tamaño y la carga apropiados atraviesen la membrana a favor de sus gradientes electroquímicos. El transporte a lo largo de los canales iónicos es como mínimo 1.000 veces más rápido que el transporte mediado por cualquiera de las proteínas transportadoras conocidas.
- Casi todos los canales iónicos están regulados y se abren transitoriamente en respuesta a ciertos estímulos específicos, como una variación del potencial de membrana (canales regulados por voltaje) o la unión de un ligando (canales regulados por ligando).
- Si bien se abren en respuesta a un estímulo específico, los canales iónicos no permanecen continuamente abiertos y fluctúan en forma aleatoria entre las conformaciones abierta y cerrada. Un estímulo activador aumenta el porcentaje de tiempo que un canal permanece abierto.
- El potencial de membrana está determinado por la distribución desigual de la carga eléctrica a ambos lados de la membrana plasmática y es modificado por el flujo de iones a través de canales abiertos. En la mayor parte de las células animales los canales de fuga selectivos para el K^+ mantienen el potencial de membrana de reposo en un valor negativo cercano al valor en el que la fuerza impulsora del desplazamiento de K^+ a través de la membrana equivale a casi cero.
- Las neuronas propagan señales en forma de potenciales de acción que pueden recorrer grandes distancias a lo largo de un axón sin debilitarse. Los potenciales de acción, en general, son mediados por canales de Na^+ regulados por voltaje que se abren en respuesta a la despolarización de la membrana plasmática.
- Los canales de Ca^{2+} regulados por voltaje presentes en las terminaciones nerviosas acoplan las señales eléctricas con la liberación de transmisores en las sinapsis. Los canales iónicos regulados por transmisores reconvierten estas señales químicas en señales eléctricas en la célula diana postsináptica.
- Los neurotransmisores excitadores inducen la apertura de canales iónicos regulados por transmisores que son permeables al Na^+ y que, por lo tanto, despolarizan la membrana de la célula postsináptica hacia el potencial umbral que desencadena un potencial de acción. Los neurotransmisores inhibidores inducen la apertura de canales de Cl^- regulados por transmisores y mediante este mecanismo suprimen la generación de un potencial de acción al mantener polarizada la membrana de la célula postsináptica.

PREC

ue

direc

da h

cont

B. A

D. E

rior

vien

C
Enu
de

Como c
te de er
Es
son con
Tal
Los
fotosínt
alm
org
generan
caso
la e
molécul
$(H_2C$
ces
molécul
culas
elec
En este
mo)
y otras
la degrac
ener
os veget
los gras
ana
as molec
ueden u

CAPÍTULO **TRECE**

13

Cómo las células obtienen energía de los alimentos

LA DEGRADACIÓN Y LA UTILIZACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS Y LAS GRASAS

REGULACIÓN DEL METABOLISMO

Como comentamos en el capítulo 3, las células necesitan una provisión constante de energía para generar y preservar el orden biológico que las mantiene vivas. Esta energía proviene de los enlaces químicos en las moléculas de alimento, que son como combustible para las células.

Tal vez las moléculas de combustible más importantes sean los monosacáridos. Los vegetales elaboran sus propios monosacáridos a partir de CO_2 por medio de la fotosíntesis. Los animales obtienen los monosacáridos y otras moléculas como el almidón, que se desdoblan con facilidad en monosacáridos, cuando ingieren otros organismos. Sin embargo, el proceso por el cual estos monosacáridos se oxidan y generan energía es muy semejante en los animales y en los vegetales. En ambos casos, las células que forman el organismo aprovechan la energía útil a partir de la energía de los enlaces químicos contenida en los monosacáridos cuando la molécula de carbohidrato se degrada y se oxida a dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O). Esta energía se almacena en la forma de "enlaces de alta energía" (enlaces covalentes que liberan grandes cantidades de energía cuando se hidrolizan) en moléculas transportadoras activadas, como ATP y NADPH. A su vez, estas moléculas transportadoras son como fuentes portátiles de los grupos químicos y los electrones necesarios para la biosíntesis (este tema se comenta en el capítulo 3).

En este capítulo analizaremos los pasos principales en la degradación (o *catabolismo*) de los monosacáridos y mostraremos cómo esta oxidación produce ATP, NADH y otras moléculas transportadoras activadas en las células. Nos concentraremos en la degradación de la glucosa porque estas reacciones dominan la producción de la energía en la mayor parte de las células animales. Una vía muy semejante opera en los vegetales, en los hongos y en muchas bacterias. Otras moléculas, como los ácidos grasos y las proteínas, también pueden actuar como fuentes de energía si se canalizan a través de las vías enzimáticas adecuadas. También veremos cuántas de las moléculas generadas a partir de la degradación de los carbohidratos y las grasas pueden utilizarse para elaborar las macromoléculas de las células.

Por último examinaremos cómo las células regulan su metabolismo y cómo almacenan las moléculas de alimento con lo cual cubren sus necesidades metabólicas futuras. Reservaremos para el capítulo 14 el desarrollo de cómo las células producen la mayoría del ATP que necesitan.

LA DEGRADACIÓN Y LA UTILIZACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS Y LAS GRASAS

Si una molécula de combustible como la glucosa se oxidara a CO_2 y H_2O en un solo paso (como ocurre en los sistemas no vivos) liberaría una cantidad de energía mucho mayor de la que cualquier molécula transportadora podría capturar. En cambio, las células vivas utilizan enzimas para realizar la oxidación de los monosacáridos en una serie de reacciones con un control muy preciso. Como se ilustra en la **figura 13-1**, una molécula de glucosa se degrada paso a paso y la energía se transfiere en "paquetes" pequeños a moléculas transportadoras activadas por medio de reacciones acopladas. De esta forma, una gran parte de la energía liberada por la oxidación de la glucosa se guarda en los enlaces de alta energía del ATP y otras moléculas transportadoras activadas y se torna disponible para realizar trabajo útil en la célula.

Las células animales elaboran ATP en dos procesos. Primero, ciertos pasos en una serie de reacciones catalizadas por enzimas están acoplados directamente a la reacción ADP + $P_i \rightarrow$ ATP, desfavorable desde el punto de vista energético. La oxidación de las moléculas de alimento provee la energía que permite que continúe esta reacción energéticamente desfavorable. El segundo proceso ocurre en las mitocondrias y utiliza la energía de las moléculas transportadoras activadas en la producción de ATP; este proceso comprende la membrana mitocondrial y se describirá en detalle en el capítulo 14. En este capítulo nos concentramos en la primera secuencia de reacciones por las que se oxidan las moléculas de alimento, tanto en el citosol como dentro de la mitocondria. Estas reacciones producen ATP y las moléculas transportadoras activadas que luego impulsarán la producción de cantidades de ATP mucho mayores en la membrana mitocondrial.

Las moléculas de alimento se degradan en tres etapas

Las proteínas, los lípidos y los polisacáridos que forman la mayoría de los alimentos que ingerimos deben degradarse en moléculas más pequeñas antes de que nuestras células puedan utilizarlos, ya sea como fuentes de energía o como unidades estructurales para otras moléculas. Este proceso de degradación, que utiliza enzimas para degradar moléculas complejas en otras más simples, se denomina **catabolismo**. El catabolismo debe actuar sobre alimentos tomados del exterior pero no sobre las

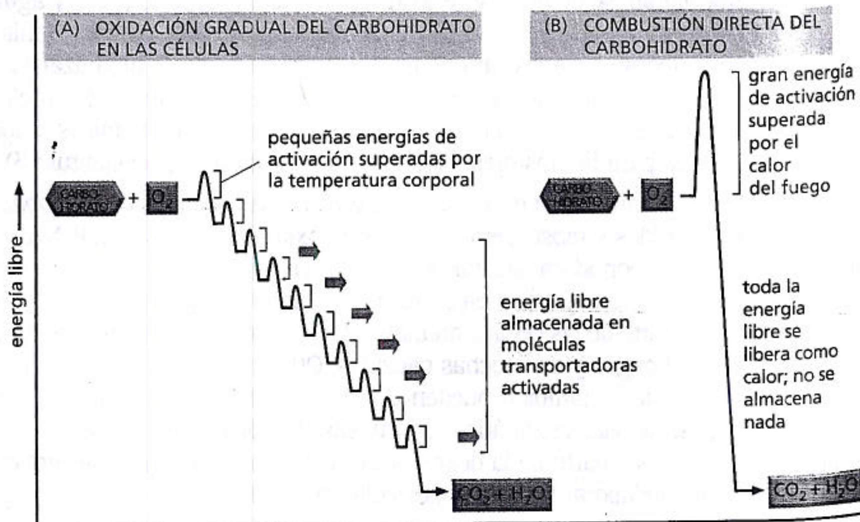


Figura 13-1. La oxidación gradual controlada del carbohidrato que ocurre en la célula conserva la energía útil, a diferencia de la combustión simple de la misma molécula de combustible. En la célula, las enzimas catalizan las oxidaciones a través de una serie de pasos pequeños en los que se transfiere energía libre a moléculas transportadoras (con mucha frecuencia ATP y NADH) en "paquetes" de tamaño conveniente. En cada paso una enzima controla la reacción mediante la reducción de la barrera de la energía de activación que debe ser superada por la colisión aleatoria de las moléculas a la temperatura de las células (temperatura corporal), de modo que se permita que ocurra la reacción específica. La energía libre total liberada por la oxidación de la glucosa –686 kcal/mol (2.880 kJ/mol)– es exactamente la misma en (A) y (B).

macromoléculas que están dentro de nuestras propias células. Por consiguiente, la etapa 1 en la degradación enzimatica de las moléculas de alimento, la *digestión*, ocurre fuera de las células (en nuestro intestino) o en un orgánulo intracelular especializado que recibe el nombre de lisosoma. Una membrana que rodea el lisosoma mantiene sus enzimas digestivas separadas del citosol (véase capítulo 15).

Las enzimas digestivas reducen las grandes moléculas poliméricas de los alimentos en sus subunidades monoméricas: las proteínas en aminoácidos, los polisacáridos en monosacáridos y las grasas en ácidos grasos y glicerol. Luego de la digestión, las pequeñas moléculas orgánicas derivadas de los alimentos entran en el citosol de una célula, donde comienza su oxidación gradual. Como se ilustra en la figura 13-2, esta oxidación ocurre en dos etapas adicionales: la etapa 2 comienza en el citosol y termina en las mitocondrias, mientras que la etapa 3 está confinada en las mitocondrias.

En la etapa 2 del catabolismo celular, una cadena de reacciones llamada *glucólisis* convierte cada molécula de *glucosa* en dos moléculas más pequeñas de *piruvato*. Los monosacáridos diferentes de la glucosa también pueden utilizarse luego de haberse convertido primero en uno de los intermediarios de carbohidrato de esta vía glucolítica. Durante la formación de piruvato se producen dos tipos de moléculas transportadoras activadas: ATP y NADH. El piruvato luego se transporta desde el citosol hacia el gran compartimiento interno de la mitocondria, la *matriz mitocondrial*. Allí, un complejo enzimático gigante convierte cada molécula de piruvato en CO_2 más **acetil** CoA, otra de las moléculas transportadoras activadas que se comentan en el capítulo 3 (véase Fig. 3-36). En la degradación gradual y la oxidación de los ácidos grasos derivados de las grasas también se producen grandes cantidades de acetil CoA.

La etapa 3 de la degradación oxidativa de las moléculas de alimento ocurre completamente en las mitocondrias. El grupo acetilo en la acetil CoA se transfiere a una molécula llamada oxalacetato y forma citrato, que entra en una serie de reacciones que componen lo que se llama el *ciclo del ácido cítrico*. El grupo acetilo transferido se oxida a CO_2 en estas reacciones y se generan grandes cantidades del transportador de electrones de alta energía NADH. Por último, los electrones de alta energía del NADH se transfieren a lo largo de una serie de enzimas ubicadas en la membrana mitocondrial interna que recibe el nombre de *cadena de transporte de electrones*, donde la energía liberada por su transferencia se utiliza en el impulso de un proceso que genera ATP y consume oxígeno molecular (gas O_2). Es en estos pasos finales que la mayor parte de la energía liberada por la oxidación se aprovecha para producir la mayoría del ATP de la célula.

Mediante la producción de ATP, la energía derivada de la degradación de los monosacáridos y las grasas se redistribuye como "paquetes" de energía química en una forma conveniente para su uso en la célula. En un instante cualquiera, en una célula típica hay en solución más o menos 10^9 moléculas de ATP y en muchas células todo este ATP se recambia (es decir que se utiliza y se repone) cada 1-2 minutos. En promedio, una persona en reposo hidrolizará su peso en moléculas de ATP cada 24 horas.

En resumen, casi la mitad de la energía que, en teoría, podría derivar de la oxidación de la glucosa o los ácidos grasos a H_2O y CO_2 se captura y se utiliza para impulsar la reacción $P_i + ADP \rightarrow ATP$, energéticamente desfavorable. En cambio, un motor de combustión moderno, como el motor de un automóvil, no puede convertir más del 20% de la energía disponible de su combustible en trabajo útil. En ambos casos, el resto de la energía se libera como calor que, en los animales, contribuye a calentar su cuerpo.

La glucólisis es una vía central de producción de ATP

El proceso central en la etapa 2 de la degradación de las moléculas de alimento es el desdoblamiento de la **glucosa** en la secuencia de reacciones conocida como **glucólisis** (del gr. *glykys*, "dulce" y *lysis*, "disolución"). La glucólisis produce ATP sin

la participación del O_2. Ocurre en el citosol de la mayoría de las células, incluidos muchos microorganismos anaerobios. Es probable que la glucólisis haya evolucionado inicialmente en la historia de la vida, antes de que los organismos fotosintéticos introdujeran el oxígeno en la atmósfera.

Durante la glucólisis, una molécula de glucosa, que tiene seis átomos de carbono, se desdobla en dos moléculas de **piruvato**, cada una de las cuales posee tres átomos de carbono. Por cada molécula de glucosa se consumen dos moléculas de ATP que proveen la energía que impulsa los pasos iniciales, pero se producen cuatro moléculas de ATP en los pasos más avanzados. Así, al final de la glucólisis hay una ganancia neta de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa degradada.

La glucólisis comprende una secuencia de 10 reacciones separadas, cada una produce un intermediario de carbohidrato diferente y es catalizada por una enzima

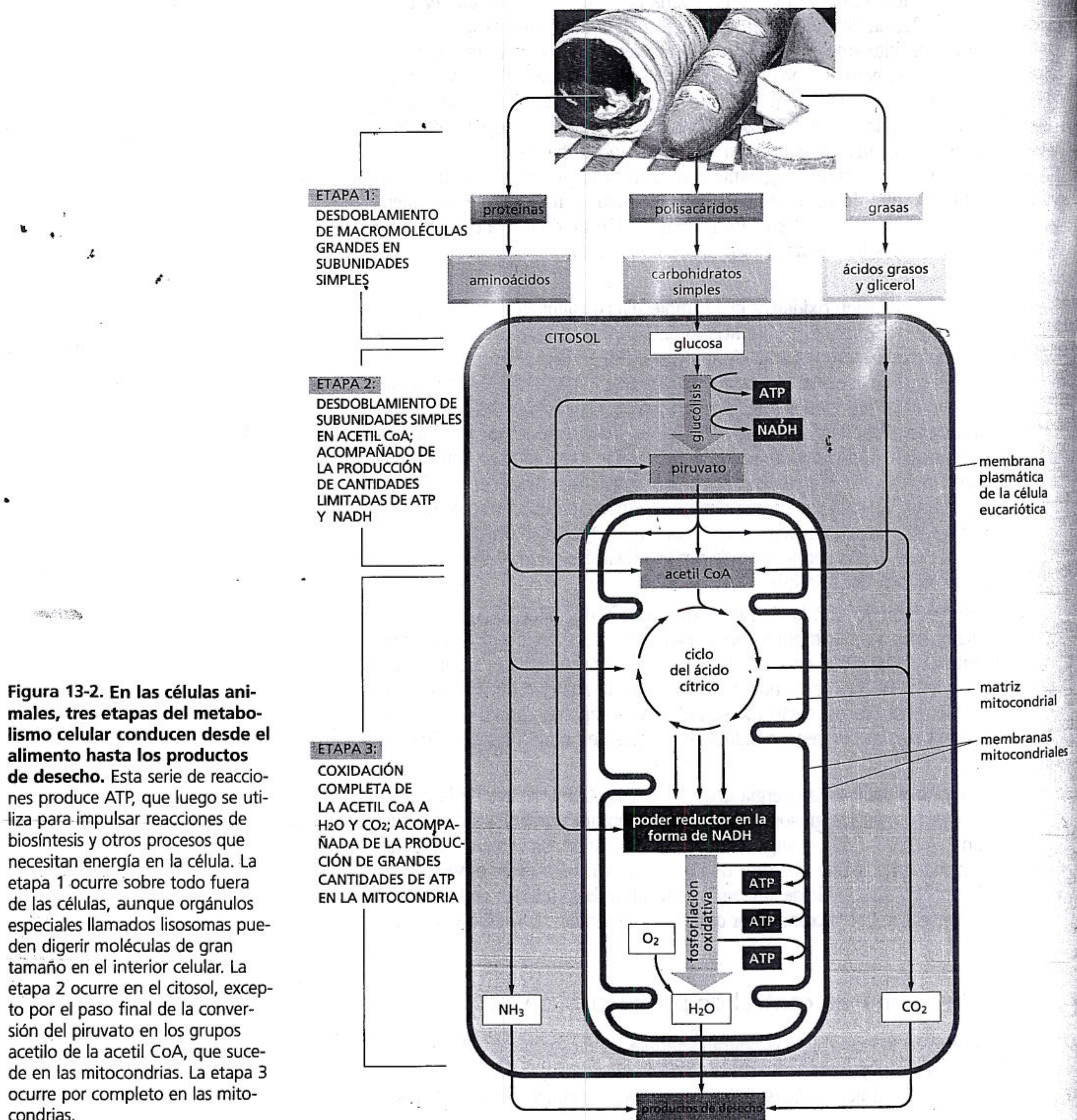


Figura 13-2. En las células animales, tres etapas del metabolismo celular conducen desde el alimento hasta los productos de desecho. Esta serie de reacciones produce ATP, que luego se utiliza para impulsar reacciones de biosíntesis y otros procesos que necesitan energía en la célula. La etapa 1 ocurre sobre todo fuera de las células, aunque orgánulos especiales llamados lisosomas pueden digerir moléculas de gran tamaño en el interior celular. La etapa 2 ocurre en el citosol, excepto por el paso final de la conversión del piruvato en los grupos acetilo de la acetil CoA, que sucede en las mitocondrias. La etapa 3 ocurre por completo en las mitocondrias.

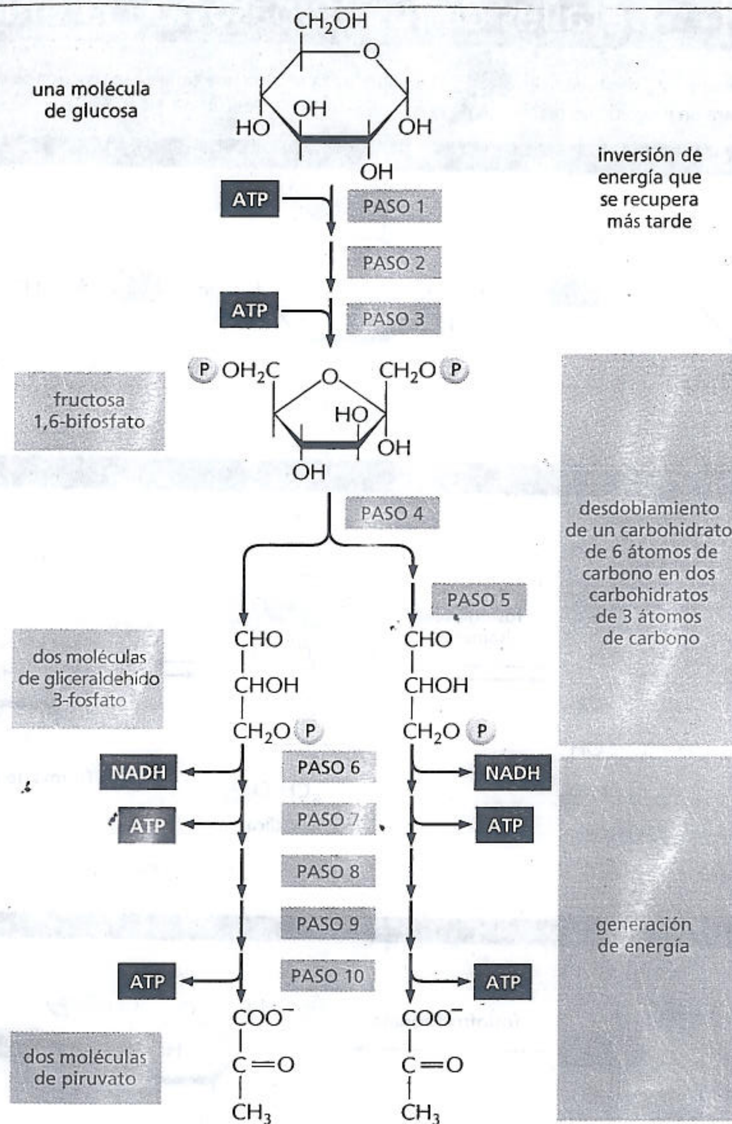


Figura 13-3. La oxidación gradual de los carbohidratos comienza con la glucólisis. Cada uno de los 10 pasos de la glucólisis es catalizado por una enzima diferente. Obsérvese que el paso 4 desdobla un carbohidrato de seis átomos de carbono en dos carbohidratos de tres carbonos, de modo que la cantidad de moléculas en cada etapa posterior es doble. Como se indica, el paso 6 inicia la fase de generación de energía de la glucólisis, que resulta en la síntesis neta de ATP y NADH (véase también Lámina 13-1). La glucólisis a veces también se denomina vía de Embden-Meyerhof, en honor al químico que la descubrió. En la **Película 13.1** se reseñan todos los pasos de la glucólisis.

diferente. Una reseña de estas reacciones se presenta en la **figura 13-3** y, con más detalle, en la **lámina 13-1** (pp. 430-431). Al igual que la mayoría de las enzimas (que se comentan en el capítulo 4), las enzimas que catalizan la glucólisis tienen nombres que terminan en *–asa* (como isomerasa y deshidrogenasa), los cuales especifican el tipo de reacción que catalizan.

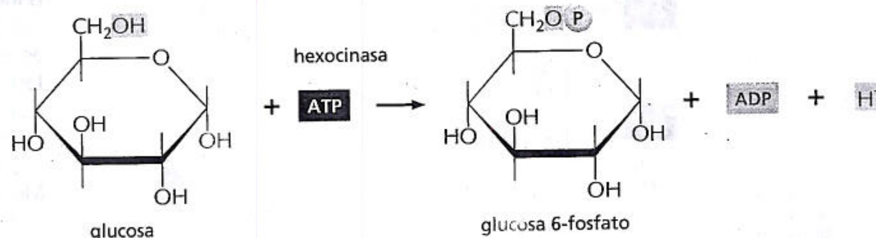
Aunque no interviene el oxígeno molecular, en la glucólisis ocurre oxidación: el NAD+ extrae electrones de algunos de los carbonos derivados de la glucosa y se convierte en **NADH**. La índole gradual del proceso permite que la energía de la oxidación se libere en "paquetes" pequeños, de modo que una gran parte de ella puede almacenarse en moléculas transportadoras en lugar de que se libere como calor (véase **Fig. 13-1**). Algo de la energía liberada por esta oxidación impulsa la síntesis de moléculas de ATP a partir de ADP y P_i. La síntesis de ATP en la glucólisis se conoce como *fosforilación en el nivel del sustrato* porque ocurre por la transferencia directa de un grupo fosfato desde una molécula sustrato (un intermediario de carbohidrato) al ADP. El resto de la energía obtenida durante la glucólisis se almacena en los electrones en el NADH.

En el curso de la glucólisis se forman dos moléculas de NADH por cada molécula de glucosa. En los organismos anaerobios estas moléculas de NADH ceden sus electrones a la cadena de transporte de electrones, como se describe en detalle en el capítulo 14. Los electrones se transfieren a lo largo de esta cadena hacia el O_2 y producen agua. El NAD+ formado a partir del NADH se reutiliza en la glucólisis (véase el paso 6, **Lámina 13-1**, p. 431). La dilucidación de la vía glucolítica com-

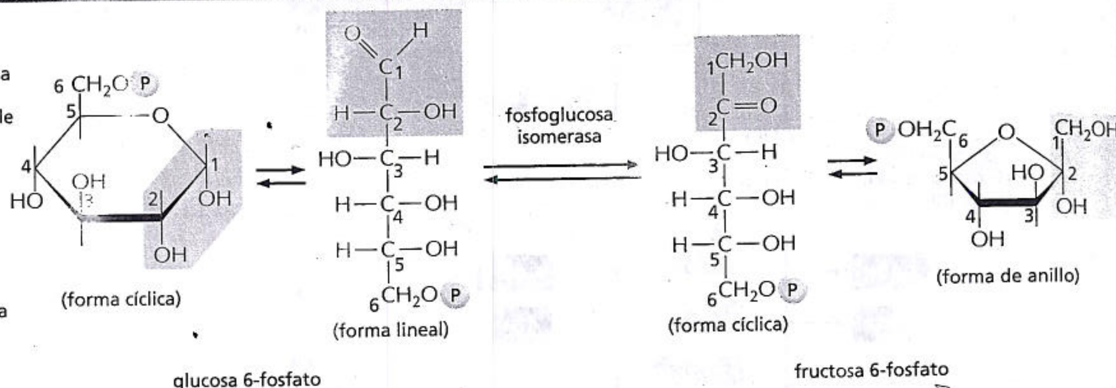
LÁMINA 13-1 Detalles de los 10 pasos de la glucólisis

Para cada paso, la parte de la molécula que sufre un cambio está sombreada en azul y el nombre de la enzima que cataliza la reacción se encuentra en un recuadro amarillo. Para un vídeo de las reacciones de la glucólisis, véase la **Película 13.1**.

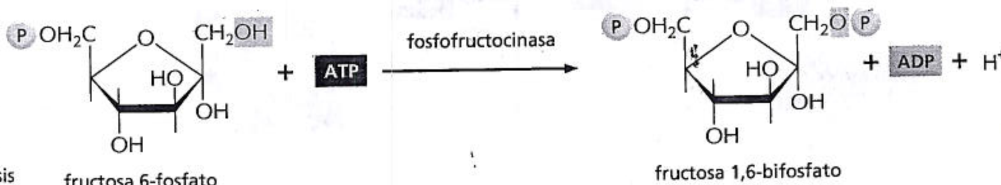
Paso 1 La glucosa es fosforilada por el ATP y forma una hexosa fosfato. La carga negativa del fosfato impide el paso de la hexosa fosfato a través de la membrana plasmática, con lo cual atrapa la glucosa dentro de la célula.



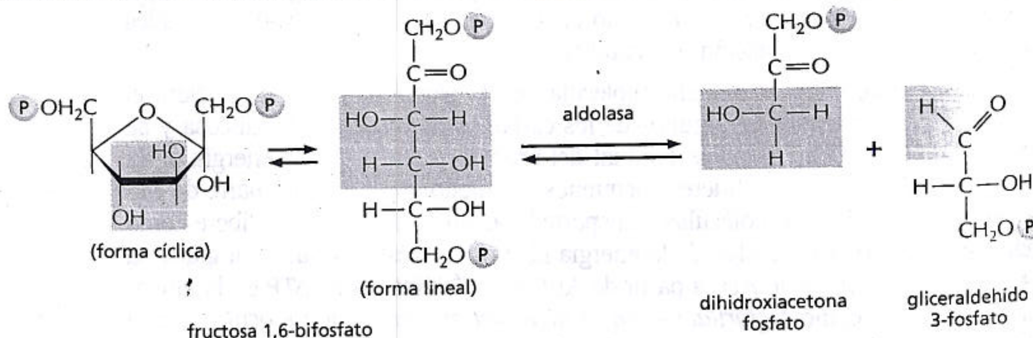
Paso 2 Una reorganización de la estructura química fácilmente reversible (isomerización) mueve el oxígeno carbonílico del carbono 1 al carbono 2 y forma una cetosa (monosacárido con grupo cetona) a partir de una aldosa (monosacárido con grupo aldehído). (Véase Lámina 2-3, pp. 68-69)



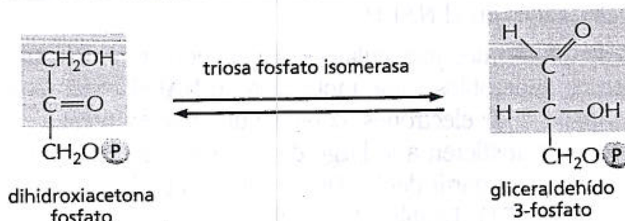
Paso 3 Grupo hidroxilo en el carbono 1 es fosforilado por el ATP en preparación para la formación de dos monosacáridos fosfato de tres átomos de carbono. En este paso se controla la entrada de los carbohidratos en la glucólisis mediante la regulación de la enzima *fosfofructocinasa*.



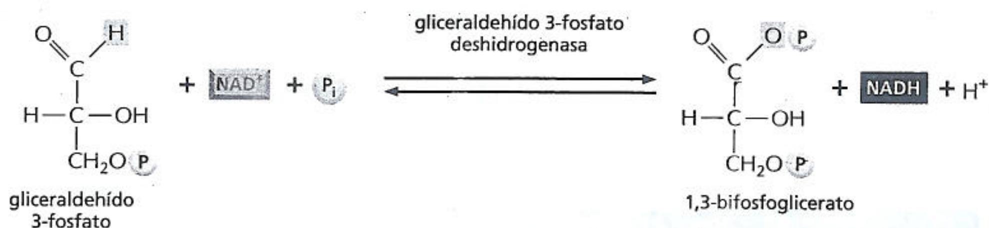
Paso 4 El carbohidrato de 6 carbonos se desdobla y produce dos moléculas de tres carbonos. Sólo el gliceraldehído 3-fosfato puede continuar de inmediato con la glucólisis.



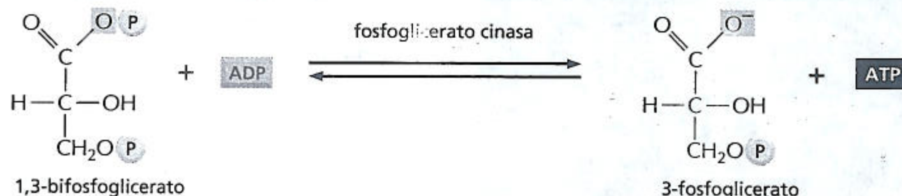
Paso 5 El otro producto del paso 4, la dihidroxiacetona fosfato, se isomeriza y forma gliceraldehído 3-fosfato.



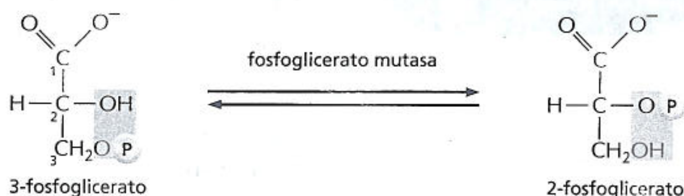
Paso 6 Las dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato se oxidan. La fase de generación de energía de la glucólisis comienza conforme se forman NADH y un nuevo enlace anhídrido de alta energía con el fosfato (véase Fig. 13-5).



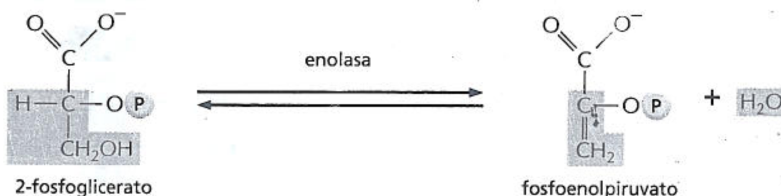
Paso 7 La transferencia al ADP del grupo fosfato de alta energía que se generó en el paso 6 forma ATP.



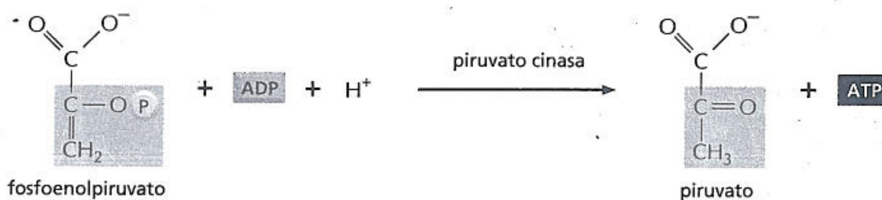
Paso 8 El enlace éster fosfato restante en el 3-fosfoglicerato, que tiene una energía libre de hidrólisis relativamente baja, se mueve del carbono 3 al carbono 2 y forma 2-fosfoglicerato.



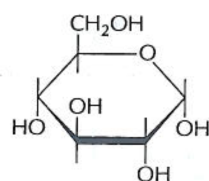
Paso 9 La extracción de agua del 2-fosfoglicerato crea un enlace enol fosfato de alta energía.



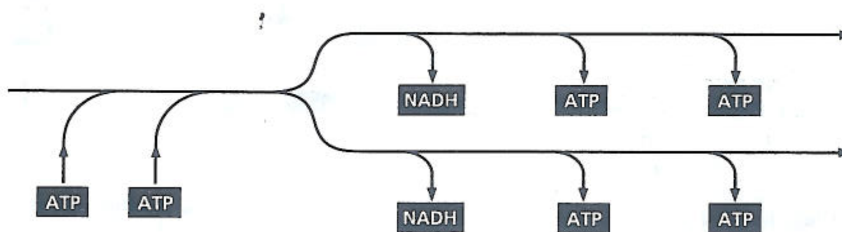
Paso 10 La transferencia al ADP del grupo fosfato de alta energía que se generó en el paso 9, forma ATP y completa la glucólisis.



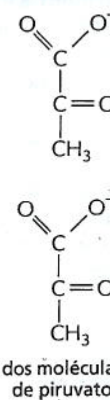
RESIULTADO NETO DE LA GLUCÓLISIS



glucosa



Además del piruvato, los productos netos son dos moléculas de ATP y dos moléculas de NADH.



dos moléculas de piruvato

pleta en la década de 1930 fue un gran triunfo de la bioquímica, al cual siguió con rapidez la identificación del papel central del ATP en los procesos celulares.

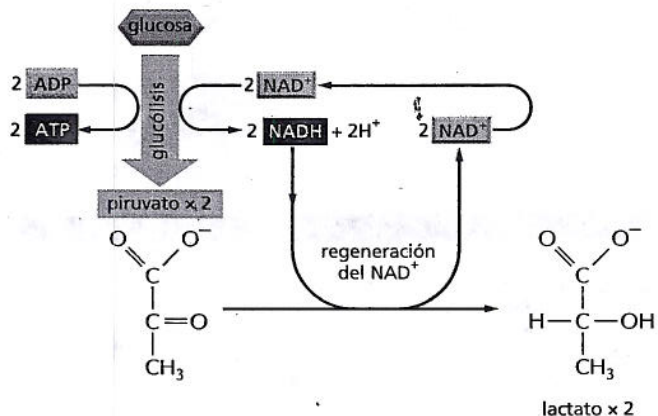
Las fermentaciones permiten que se produzca ATP en ausencia de oxígeno

Para la mayoría de las células animales y vegetales la glucólisis es solo un preludio de la tercera y última etapa de la degradación de las moléculas de alimento, en la que se generan grandes cantidades de ATP mediante fosforilación oxidativa en las mitocondrias con el consumo de oxígeno. Sin embargo, para muchos microorganismos anaerobios que no utilizan O_2 y que pueden crecer y dividirse en su ausencia, la glucólisis es la fuente principal de ATP. Esto también es aplicable a ciertos tejidos animales, como el músculo esquelético, que puede seguir funcionando con concentraciones bajas de O_2. En estas condiciones anaeróbicas, el piruvato y el NADH permanecen en el citosol. El piruvato se convierte en productos que se excretan de la célula: por ejemplo, lactato en el músculo o etanol y CO_2 en las levaduras utilizadas en la fermentación de bebidas o la elaboración del pan. En el proceso, el NADH cede sus electrones y se vuelve a convertir en NAD^+. Esta regeneración del NAD^+ es necesaria para mantener las reacciones de la glucólisis (Fig. 13-4). Este tipo de vías, en donde la obtención de la energía es anaeróbica, reciben el nombre de **fermentaciones**. Los estudios de las fermentaciones de importancia comercial realizadas por las levaduras inspiraron una gran parte de los principios de la bioquímica.

Muchas bacterias y arqueas (arqueobacterias) también pueden generar ATP en ausencia de oxígeno por medio de la *respiración anaeróbica*, un proceso que uti-

PREGUNTA 13-1

A primera vista, parecería que los pasos finales de la fermentación son innecesarios: la generación de lactato o etanol no produce ninguna energía adicional para la célula. Explique por qué las células que se desarrollan en ausencia de oxígeno no podrían simplemente desembarazarse del piruvato como un producto de desecho. ¿Qué productos derivados de la glucosa se acumularían en las células incapaces de generar lactato o etanol por fermentación?



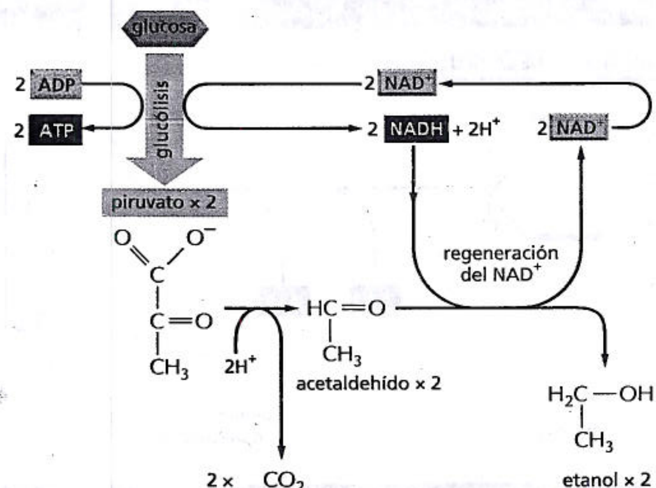


Figura 13-4. El piruvato puede degradarse por fermentación en ausencia de oxígeno. (A) Cuando no hay suficiente oxígeno, por ejemplo en una célula muscular que sufre una contracción vigorosa, el piruvato producido por la glucólisis se convierte en lactato, como se muestra aquí. Esta reacción restablece el NAD^+ consumido en el paso 6 de la glucólisis, pero toda la vía rinde mucha menos energía total que la oxidación completa. (B) En algunos organismos que pueden proliferar en anaerobiosis, como las levaduras, el piruvato se convierte a través de acetaldehído en dióxido de carbono y etanol. Otra vez, esta vía regenera NAD^+ a partir de NADH, según se necesita para permitir que la glucólisis continúe. Tanto (A) como (B) son ejemplos de fermentaciones.

liza una molécula diferente del oxígeno como aceptor final de electrones. La respiración anaeróbica difiere de la fermentación porque en ella participa una cadena de transporte de electrones incorporada en una membrana.

La glucólisis ilustra cómo las enzimas acoplan la oxidación al almacenamiento de energía

La analogía de la "rueda de paletas" en el capítulo 3 explicaba cómo las células obtienen energía útil a partir de la oxidación de moléculas orgánicas mediante el acoplamiento de una reacción energéticamente desfavorable con otra energéticamente favorable (véase **Fig. 3-30**). Para ilustrar con exactitud cómo las enzimas (la rueda de paletas en nuestra analogía) permiten que ocurran las reacciones acopladas examinaremos con más detenimiento un par fundamental de reacciones glucolíticas.

Estas reacciones, los pasos 6 y 7 en la **lámina 13-1**, convierten el intermediario de carbohidrato de 3 carbonos gliceraldehído 3-fosfato (un aldehído) en 3-fosfoglicerato (un ácido carboxílico). Esta conversión incluye la oxidación de un grupo aldehído a un grupo ácido carboxílico, lo cual ocurre en dos pasos. La reacción total libera energía libre suficiente para convertir una molécula de ADP en ATP y para transferir dos electrones del aldehído al NAD^+ para formar NADH, mientras que todavía libera calor suficiente al entorno para tornar la reacción global energéticamente favorable: la ΔG^0 para la reacción total es –3,0 kcal/mol (–12,5 kJ/mol).

Esta proeza extraordinaria de obtención de la energía se detalla en la **figura 13-5**. Las reacciones químicas son guiadas con precisión por dos enzimas a las que se unen con firmeza los intermediarios de carbohidrato. En realidad, como se muestra en la **figura 13-5**, la primera enzima (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa) forma un enlace covalente de poca duración con el aldehído a través de un grupo -SH reactivo en la enzima y cataliza su oxidación en este estado de unión. Después, el enlace enzima-sustrato reactivo es desplazado por un ión fosfato inorgánico para producir un intermediario de fosfato de alta energía que se libera de la enzima. El intermediario, 1,3-bifosfoglicerato, se une a la segunda enzima (fosfoglicerato cinasa). Esta enzima, luego cataliza la transferencia energéticamente favorable del fosfato de alta energía del intermediario al ADP, así se forma ATP y se completa el proceso de la oxidación de un aldehído a un ácido carboxílico.

Este proceso oxidativo particular se comenta con cierto detalle porque provee un ejemplo claro del almacenamiento de energía mediado por enzimas a través de reacciones acopladas (**Fig. 13-6**). Estas reacciones (pasos 6 y 7) son las únicas de la glucólisis que crean un enlace fosfato de alta energía directamente a partir de fosfato inorgánico. Además, son la causa de la obtención neta de dos moléculas de ATP y dos moléculas de NADH por molécula de glucosa. Como ya se mencionó, este NADH debe reoxidarse a NAD^+ necesario para estas reacciones acopladas. Si no hay NAD^+ disponible, la glucólisis se detiene (véase **Fig. 13-4**).

Entonces, el ATP se puede generar con facilidad a partir de ADP cuando se forman intermediarios de reacción con enlaces fosfato de energía mayor que los del ATP. La energía de los enlaces fosfato puede ordenarse mediante la determinación del cambio de la energía libre estándar (ΔG^0) por la rotura de cada enlace por hidrólisis; la **figura 13-7** compara los enlaces fosfoanhidros de alta energía del ATP con algunos otros enlaces fosfato que se generan durante la glucólisis. Como se explica en la **lámina 3-1** (p. 95), designamos un enlace como "de alta energía" sólo en el sentido de que su hidrólisis es en particular energéticamente favorable.

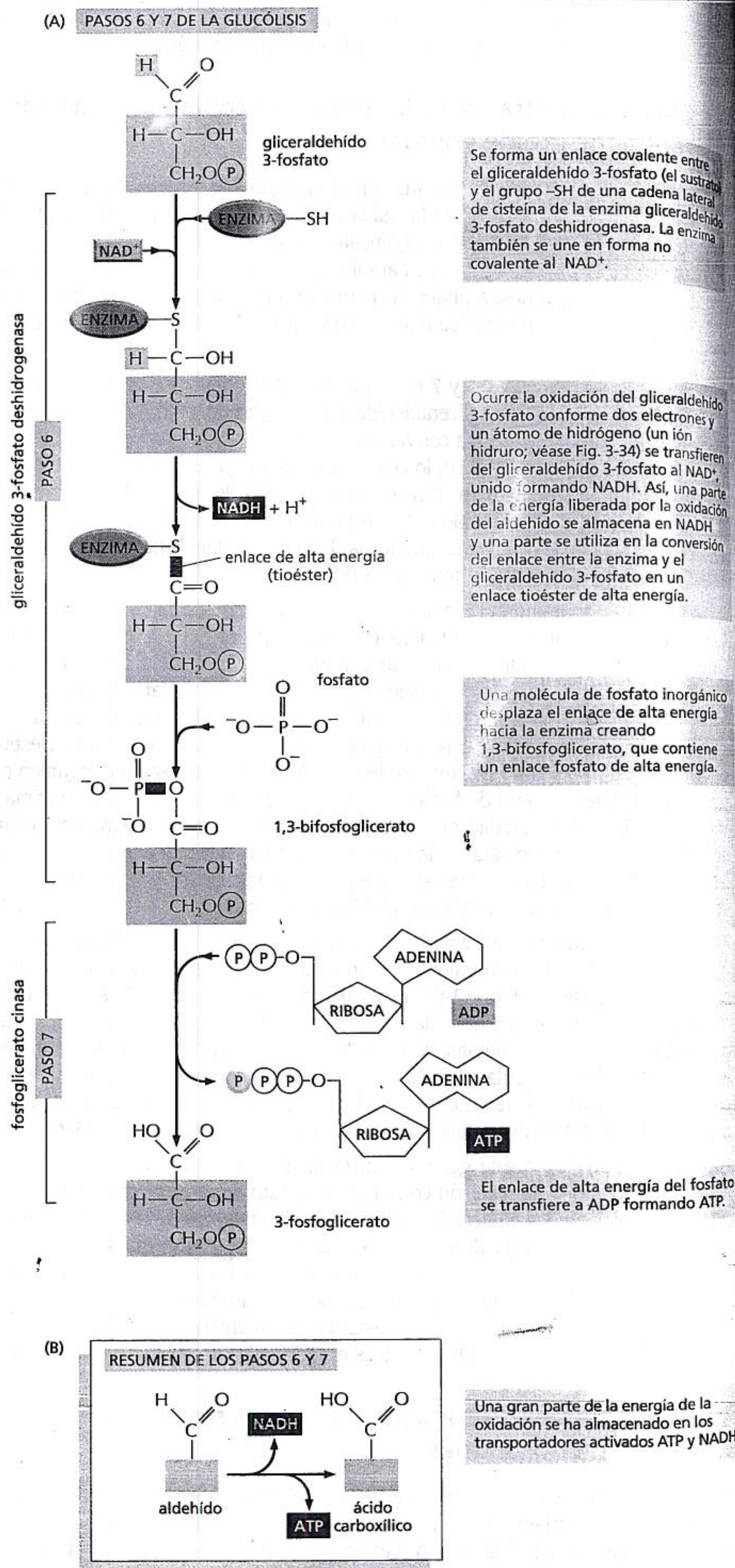
PREGUNTA 13-2

El arseniato (AsO_4^{3-}) tiene una química muy semejante a la del fosfato (PO_4^{3-}) y muchas enzimas que requieren fosfato lo utilizan como un sustrato alternativo. Sin embargo, a diferencia del fosfato, un enlace anhidrido entre el arseniato y un carbono se hidroliza con mucha rapidez en el agua. En conocimiento de esto, indique por qué el arseniato es un compuesto de elección para los asesinos pero no para las células. Formule su explicación en el contexto de la figura 13-6.

Tanto los carbohidratos como las grasas se degradan a acetil CoA en las mitocondrias

En el metabolismo aeróbico en las células eucarióticas, el piruvato producido por la glucólisis se bombea en forma activa hacia la matriz mitocondrial, el compartimiento interno principal de este orgánulo (véase Fig. 14-12). Allí es descarboxi-

Figura 13-5. La energía se obtiene en los pasos 6 y 7 de la glucólisis. En estos pasos la oxidación de un aldehído en un ácido carboxílico está acoplada con la formación de ATP y NADH. (A) En el paso 6 la enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa acopla la oxidación energéticamente favorable de un aldehído a la formación energéticamente desfavorable de un enlace fosfato de alta energía. Al mismo tiempo permite que la energía se almacene en el NADH. La formación del enlace fosfato de alta energía es impulsada por la reacción de oxidación y por esta razón la enzima actúa como el acoplador en "rueda de paletas" de la figura 3-30B. En el paso 7 de la reacción, el enlace fosfato de alta energía recién formado en el 1,3-bifosfoglicerato se transfiere a ADP, lo que forma una molécula de ATP y deja un grupo ácido carboxílico libre en el carbohidrato oxidado. Esta reacción es catalizada por la enzima fosfoglicerato cinasa. Obsérvese que la porción sombreada de la molécula de gliceraldehído 3-fosfato (*gris*) permanece sin cambios a través de todas estas reacciones. (B) Resumen de la modificación química total producida por las reacciones 6 y 7.



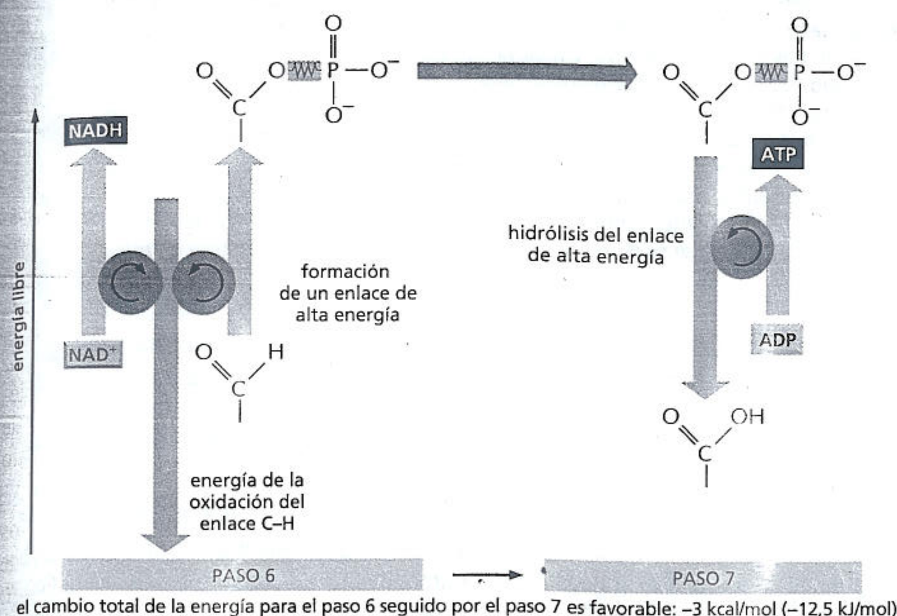


Figura 13-6. El acoplamiento de las reacciones en los pasos 6 y 7 de la glucólisis permite la formación energéticamente desfavorable de un enlace fosfato de alta energía. En el paso 6, la energía de la oxidación del enlace C–H impulsa la formación de NADH y un enlace fosfato de alta energía. Luego, la rotura del enlace de alta energía en el paso 7 impulsa la formación de ATP.

tipo de enlace fosfato	ejemplos específicos que muestran el cambio de energía libre estándar (ΔG°) para la hidrólisis del enlace fosfato	ΔG° PARA LA HIDRÓLISIS (kcal/mol)
enlace enol fosfato	fosfoenolpiruvato (véase Lámina 13-1, pp. 430-431)	-14,8
enlace anhídrido con el carbono	por ejemplo, 1,3-bifosfoglicerato (véase Lámina 13-1)	-11,7
enlace fosfato en la creatina fosfato	creatina fosfato (transportador activado que almacena energía en el músculo)	-10,3
enlace anhídrico con el fosfato (enlace fosfoanhídrido)	por ejemplo, ATP cuando se hidroliza a ADP	-7,3
enlace fosfoéster	por ejemplo, glucosa 6-fosfato (véase Lámina 13-1)	-3,3

Figura 13-7. Las diferencias en las energías de los distintos enlaces fosfato permiten la formación de ATP por fosforilación en el nivel del sustrato. En las moléculas que se ilustran a la izquierda se muestran ejemplos de los tipos diferentes de enlaces fosfato y los sitios de hidrólisis. Las que empiezan con un átomo de carbono gris sólo muestran parte de una molécula. A la derecha se dan ejemplos de moléculas que contienen esos enlaces, con el cambio de energía libre para la hidrólisis en kcal/mol (1 kcal = 4.184 kJ). La transferencia de un grupo fosfato de una molécula a otra es energéticamente favorable si el cambio de energía libre estándar (ΔG⁰) para la hidrólisis del enlace fosfato de la primera molécula es más negativo que el de la hidrólisis del enlace fosfato (una vez establecido) de la segunda. Así, un grupo fosfato se transfiere con facilidad del 1,3-bifosfoglicerato al ADP que forma ATP. La reacción de hidrólisis puede considerarse como la transferencia del grupo fosfato al agua.

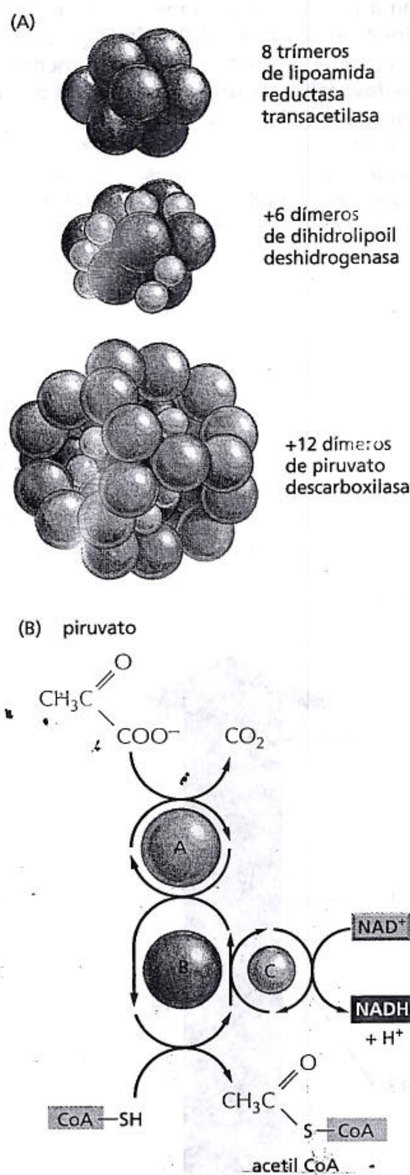


Figura 13-8. El piruvato es oxidado a acetil CoA y CO_2 por la piruvato deshidrogenasa. (A) Estructura general del complejo de la piruvato deshidrogenasa, que contiene tres enzimas diferentes y unas 60 cadenas polipeptídicas. En este gran complejo multienzimático los intermediarios de la reacción se transfieren directamente de una enzima a otra. (B) Reacciones realizadas por el complejo de la piruvato deshidrogenasa. El complejo convierte piruvato en acetil CoA en la matriz mitocondrial; en esta reacción también se produce NADH. A, B y C son las tres enzimas *piruvato descarboxilasa*, *lipoamida reductasa-transacetilasa* y *dihidrolipoil deshidrogenasa*, respectivamente, como se muestra en (A); sus actividades están relacionadas en la forma en que se ilustra. El piruvato y sus productos se muestran en *rojo*.

lado con rapidez por un complejo gigante de tres enzimas llamado *complejo de la piruvato cinasa*. Los productos de la descarboxilación del piruvato son una molécula de CO_2 (un producto de desecho), una molécula de NADH y una molécula de acetil CoA. En la **figura 13-8** se esbozan la estructura y la función de la piruvato deshidrogenasa.

Los ácidos grasos, derivados de las **grasas**, son un combustible alternativo de los monosacáridos para la generación de energía. Al igual que el piruvato derivado de la glucólisis, los ácidos grasos en las mitocondrias se convierten en acetil CoA. Cada molécula larga de ácido graso (en la forma de la molécula activada, graso acil CoA) se degrada por completo en un ciclo de reacciones que corta dos carbonos a la vez de su extremo carboxilo, con lo cual se genera una molécula de acetil CoA en cada vuelta del ciclo. En este proceso también se produce una molécula de NADH y una molécula de otro transportador de electrones, *$FADH_2$* (**Figura 13-9**).

Los monosacáridos y las grasas constituyen las fuentes de energía principales para la mayoría de los organismos no fotosintéticos, incluidos los seres humanos. En el curso de su procesamiento a acetil CoA sólo una pequeña parte de la energía útil almacenada en estas sustancias nutritivas se extrae y se convierte en ATP o NADH. La mayor parte de la energía todavía se encuentra encerrada en la acetil CoA. Por lo tanto, el paso siguiente de la respiración, en el cual el grupo acetilo de la acetil CoA se oxida a CO_2 y H_2O en el ciclo del ácido cítrico, es fundamental para el metabolismo energético de los organismos aerobios. En los eucariontes, el ciclo del ácido cítrico ocurre en las mitocondrias, los orgánulos hacia los cuales se dirigen el piruvato y los ácidos grasos y producen acetil CoA (**Fig. 13-10**).

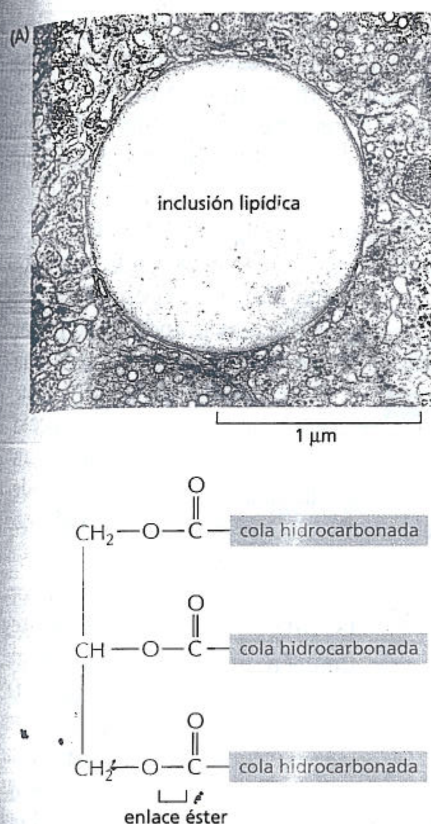
Además del piruvato y los ácidos grasos, algunos aminoácidos se transportan desde el citosol hacia las mitocondrias, donde también se convierten en acetil CoA o alguno de los otros intermediarios del ciclo del ácido cítrico (véase **Fig. 13-2**). Así, en la célula eucariótica, la mitocondria es el centro hacia donde conducen todos los procesos de obtención de energía, ya sea que comiencen con monosacáridos, grasas o proteínas. En las bacterias aerobias, que carecen de mitocondrias, todas estas reacciones (la glucólisis, la producción de acetil CoA y el ciclo del ácido cítrico) ocurren en el compartimiento único del citosol.

PREGUNTA 13-3

Muchas reacciones catabólicas y anabólicas tienen su fundamento en reacciones que son semejantes pero funcionan en direcciones opuestas, como las reacciones de hidrólisis y condensación descritas en la figura 3-38. Esto es cierto para la degradación y la síntesis de los ácidos grasos. Con lo que sabe sobre el mecanismo de la degradación de los ácidos grados esquematizado en la figura 13-9, ¿esperaría que los ácidos grasos hallados en las células tuviesen habitualmente una cantidad par o una cantidad impar de átomos de carbono?

El ciclo del ácido cítrico genera NADH mediante la oxidación de grupos acetilo a CO_2

La tercera y última etapa en la degradación oxidativa de las moléculas de alimento que genera energía requiere O_2 abundante. Aunque los organismos vivos han habitado en la Tierra durante los últimos 3.500 millones de años, se cree que el planeta desarrolló una atmósfera con contenido de gas O_2 hace sólo 1.000 a 2.000 millones de años (véase **Fig. 14-43**). Por lo tanto, es probable que las reacciones que consumen oxígeno que comentaremos a continuación tengan un origen relativamente reciente. En cambio, el mecanismo utilizado en la producción de ATP que se muestra en la **figura 13-5** no necesita oxígeno y análogos de ese elegante par de reacciones acopladas podrían haber surgido muy al principio en la historia de la vida sobre la Tierra.



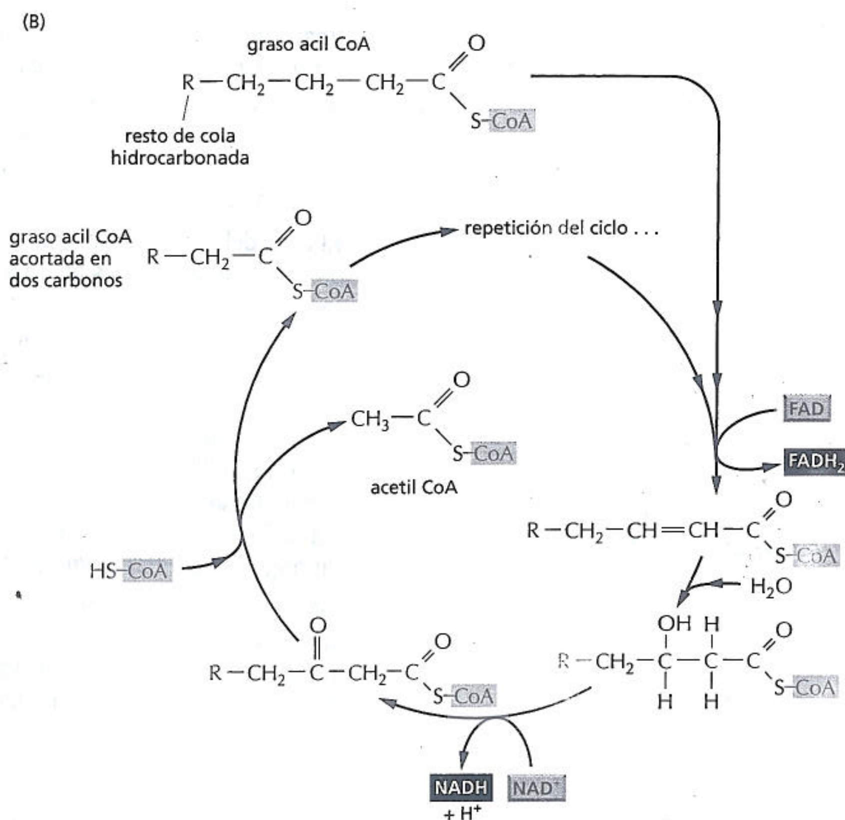


Figura 13-9. Los ácidos grasos también se oxidan a acetil CoA. (A) Microfotografía electrónica de una inclusión lipídica en el citoplasma (*arriba*) y la estructura de las grasas (*abajo*). Las grasas son triacilgliceroles. La porción de glicerol, a la que se unen tres ácidos grasos mediante enlaces de tipo éster, se muestra aquí en *azul*. Las grasas son insolubles en agua y forman inclusiones lipídicas grandes en las células adiposas especializadas (llamadas adipocitos) en las que se almacenan. (B) El ciclo de oxidación de los ácidos grasos. El ciclo es catalizado por una serie de cuatro enzimas en la mitocondria. Cada vuelta del ciclo acorta la cadena del ácido graso en dos carbonos (que se muestran en *rojo*) y genera una molécula de acetil CoA y sendas moléculas de NADH y $FADH_2$. (A, gentileza de Daniel S. Friend).

En el siglo XIX, los biólogos advirtieron que en ausencia de oxígeno (condiciones anaeróbicas) las células producían ácido láctico (por ejemplo, en el músculo) o etanol (por ejemplo, en levaduras), mientras que en presencia de oxígeno (condiciones aeróbicas) estas células consumían O_2 y producían CO_2 y H_2O. Los grandes esfuerzos para definir las vías del metabolismo aeróbico finalmente se concentraron en la oxidación del piruvato y en 1937 condujeron al descubrimiento del **ciclo del ácido cítrico**, también conocido como *ciclo del ácido tricarboxílico* o *ciclo de Krebs* (véase **Biología experimental**, pp. 440-441). El ciclo del ácido cítrico realiza alrededor de los dos tercios de la oxidación total de los compuestos carbonados en la mayoría de las células y sus principales productos finales son CO_2 y electrones de alta energía en la forma de NADH. El CO_2 se libera como producto de desecho, mientras que los electrones de alta energía del NADH se transfieren a

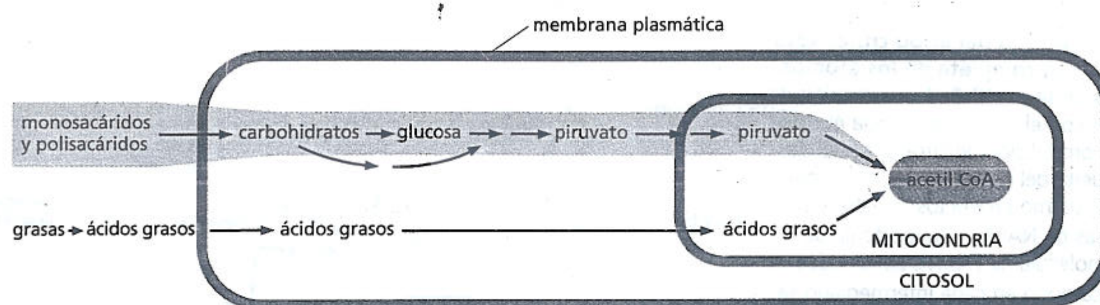


Figura 13-10. En las células eucarióticas, la acetil CoA se produce en las mitocondrias a partir de moléculas derivadas de carbohidratos y grasas. Las reacciones oxidativas de la célula en su mayoría ocurren en estos orgánulos y la mayor parte del ATP se elabora aquí.

ESCLARECIENDO EL CICLO DEL ÁCIDO CÍTRICO

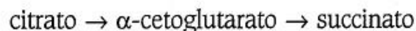
"Con frecuencia me han preguntado cómo surgió y se desarrolló el trabajo sobre el ciclo del ácido cítrico" declaró el químico biológico Hans Krebs en una conferencia y en un artículo de revisión donde contó su descubrimiento, galardonado con el premio Nobel, del ciclo de reacciones que se halla en el centro del metabolismo celular. El concepto, ¿se originó en una inspiración repentina, en una visión reveladora? "No fue nada de eso", respondió Krebs. En cambio, su comprensión de que estas reacciones ocurrían en un ciclo (en lugar de en un conjunto de vías lineales) surgió de "un proceso evolutivo muy lento" que se desarrolló a lo largo de un período de cinco años, durante el cual Krebs combinó saber y razonamiento a la experimentación minuciosa para descubrir una de las vías centrales subyacente al metabolismo energético en las células.

Tejidos desmenuzados, catálisis curiosa

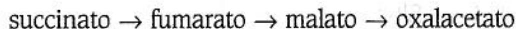
Ya al principio de la década de 1930, Krebs y otros investigadores habían descubierto que un conjunto selecto de moléculas se oxida con una rapidez extraordinaria en tipos diversos de preparaciones de tejidos (lonjas de riñón o hígado o suspensiones de músculo de paloma desmenuzado). Dado que estas reacciones dependen de la presencia de oxígeno, los investigadores sospecharon que este conjunto de compuestos podría incluir intermediarios que son importantes en la respiración celular, es decir, en el consumo de O_2 y la producción de CO_2 que acompañan el metabolismo de los alimentos.

Mediante el uso de las preparaciones de tejido desmenuzado, Krebs y otros investigadores realizaron las observaciones siguientes. Primero, que en presencia de oxígeno ciertos ácidos orgánicos (citrato, succinato, fumarato y malato) se oxidan con facilidad a dióxido de carbono. Estas reacciones dependen de un suministro continuo de oxígeno.

Segundo, que la oxidación de estos compuestos recae en un par de vías secuenciales lineales.


citrato → α-cetoglutarato → succinato

y


succinato → fumarato → malato → oxalacetato

Tercero, que cantidades pequeñas de varios de estos compuestos, al añadirse a suspensiones de músculo desmenuzado, estimulan una captación de oxígeno grande no habitual, mucho mayor que la necesaria para oxidar sólo las moléculas añadidas. Para explicar esta observación sorprendente, Albert Szent-Györgyi (el premio Nobel que dilucidó la segunda vía mencionada) sugirió que una sola molécula de cada compuesto de alguna forma debía actuar catalíticamente estimulando la oxidación de muchas moléculas de alguna sustancia endógena en el músculo.

En ese momento, ya se conocía la mayor parte de las reacciones centrales del ciclo del ácido cítrico. Pero, lo que todavía no quedaba claro (y causaba gran confusión, incluso a los futuros premios Nobel) era cómo estas reacciones en apariencia lineales podían impulsar semejante consumo catalítico de oxígeno, donde cada molécula de metabolito abastece la oxidación de muchas moléculas más. Para simplificar cómo al final Krebs resolvió este acertijo con la vinculación de estas reacciones lineales en un ciclo, a partir de ahora nos referiremos a las moléculas participantes mediante una secuencia de letras, de la A a la H (Fig. 13-13).

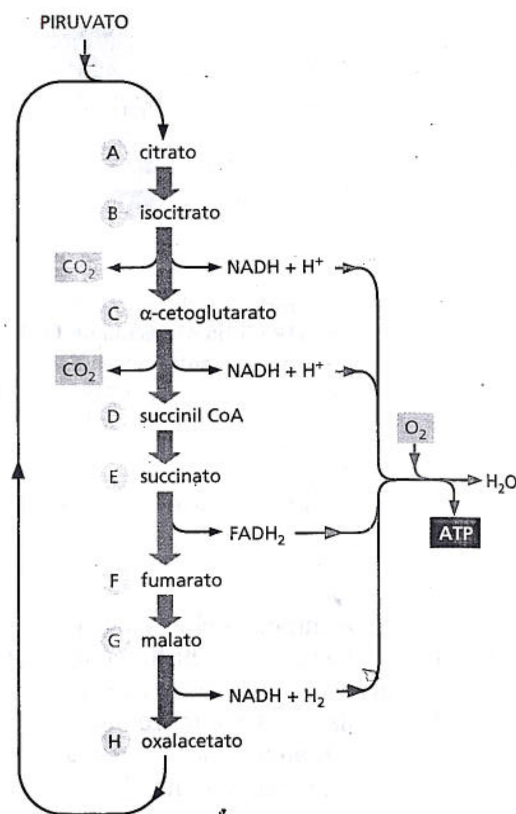


Figura 13-13. En esta representación simplificada del ciclo del ácido cítrico se consume O_2 y se libera CO_2 conforme los intermediarios moleculares se oxidan. Al principio, Krebs y otros investigadores no se dieron cuenta de que estas reacciones oxidativas ocurrían en un ciclo, como se ilustra aquí.

Una sustancia tóxica sugiere un ciclo

Muchos de los indicios que usó Krebs para formular el ciclo del ácido cítrico provinieron de experimentos con malonato, un compuesto tóxico que inhibe en forma específica la enzima succinato deshidrogenasa, que convierte E en F. El malonato se parece mucho al succinato (E) en cuanto a su estructura (Fig. 13-14) y actúa como un inhibidor competitivo de la enzima. A causa de que la adición de malonato intoxica la respiración en los tejidos, Krebs llegó a la conclusión que la succinato deshidrogenasa –y toda la vía ligada a ella– debía cumplir una función decisiva en la respiración celular.

Luego Krebs descubrió que cuando se añade A, B o C a las suspensiones de tejido intoxicadas con malonato, E se acumula

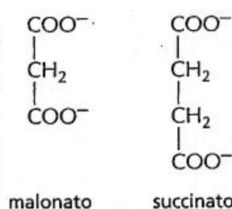


Figura 13-14. La estructura del malonato se parece mucho a la del succinato.

(Fig. 13-15A). Esta observación refuerza la importancia de la succinato deshidrogenasa para una respiración exitosa. Sin embargo, Krebs halló que E también se acumulaba cuando se añadía F, G o H a músculo intoxicado con malonato (Fig. 13-15B). Este último resultado indica que debe existir un conjunto adicional de reacciones que pueden convertir moléculas de F, G y H en E, dado que se había demostrado antes que E era un precursor de F, G y H y no un producto de sus reacciones.

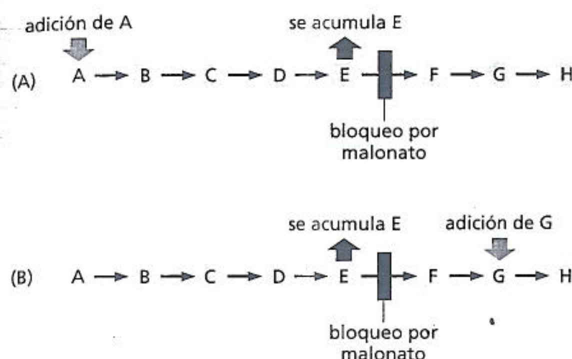
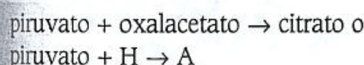


Figura 13-15. **El "envenenamiento" de preparaciones de músculo con malonato proporcionó indicios acerca de la índole cíclica de estas reacciones oxidativas.** (A) La adición de A, B o C a músculo intoxicado con malonato causa una acumulación de E. (B) La adición de F, G o H a una preparación "envenenada" con malonato también causa una acumulación de E, lo cual sugiere que reacciones enzimáticas pueden convertir estas moléculas en E. El descubrimiento de que el citrato (A) puede formarse a partir de oxalacetato (H) y piruvato permitió que Krebs uniera estas dos vías reactivas en un ciclo completo.

En ese momento Krebs también determinó que cuando las suspensiones de músculo se incubaban con piruvato y oxalacetato, se formaba citrato:



piruvato + oxalacetato → citrato o
piruvato + H → A

Esta observación condujo a que Krebs postulara que cuando hay oxígeno, el piruvato y H se condensan y forman A, lo cual convierte la serie de reacciones lineales descrita antes en una secuencia cíclica (véase Fig. 13-13). Sin embargo, el descubrimiento de que la acetil CoA en esta reacción actúa como un intermediario entre el piruvato y el oxalacetato demoró otra década.

Explicación de los misteriosos efectos estimuladores

El ciclo de reacciones propuesto por Krebs explicaba con claridad cómo la adición de cantidades pequeñas de cualquiera de los intermediarios A a H podía causar el gran aumento en la captación de O_2 que se había observado. El piruvato es abundante en los tejidos desmenuzados dado que se produce con facilidad por la glucólisis que utiliza la glucosa derivada del glucógeno almacenado (véase Fig. 13-3). Su oxidación necesita un ciclo del ácido cítrico funcional, donde cada vuelta produzca la oxidación de una molécula de piruvato. Si la provisión de los intermediarios A a H es suficientemente pequeña, la velocidad con la que todo el ciclo progresa estará restringida. Entonces, la adición de una provisión de cualquiera de estos intermediarios tendrá un efecto espectacular sobre la velocidad con que opera el ciclo del ácido cítrico en su totalidad (Fig. 13-16). Por consiguiente, es fácil ver cómo una gran cantidad de moléculas de piruvato puede oxidarse (y una gran cantidad de oxígeno puede consumirse) por cada molécula que se añade de un intermediario del ciclo del ácido cítrico.

Krebs continuó con la demostración de que todas las reacciones enzimáticas individuales en el ciclo que había postulado ocurren en preparaciones de tejidos. Además, ocurren con velocidades lo suficiente altas para ser la causa del ritmo de consumo de piruvato y oxígeno en estos tejidos. Por lo tanto, Krebs concluyó que esta serie de reacciones es la principal (si no la única) vía para la oxidación del piruvato, por lo menos en el músculo. Mediante el encaje de los fragmentos de información como en un rompecabezas y la búsqueda de los "eslabones" faltantes, Krebs logró elaborar una representación coherente de los procesos metabólicos que subyacen a la oxidación de los alimentos. De un modo extraordinario, Krebs dilucidó esta vía metabólica intrincada sin la ayuda de los reactivos y las técnicas considerados esenciales por los bioquímicos modernos: los marcadores radiactivos que permiten rastrear los compuestos marcados a través de estas vías de reacciones o la espectrometría de masa, un método poderoso para identificar con rapidez los diversos intermediarios químicos que aparecen a lo largo del camino.

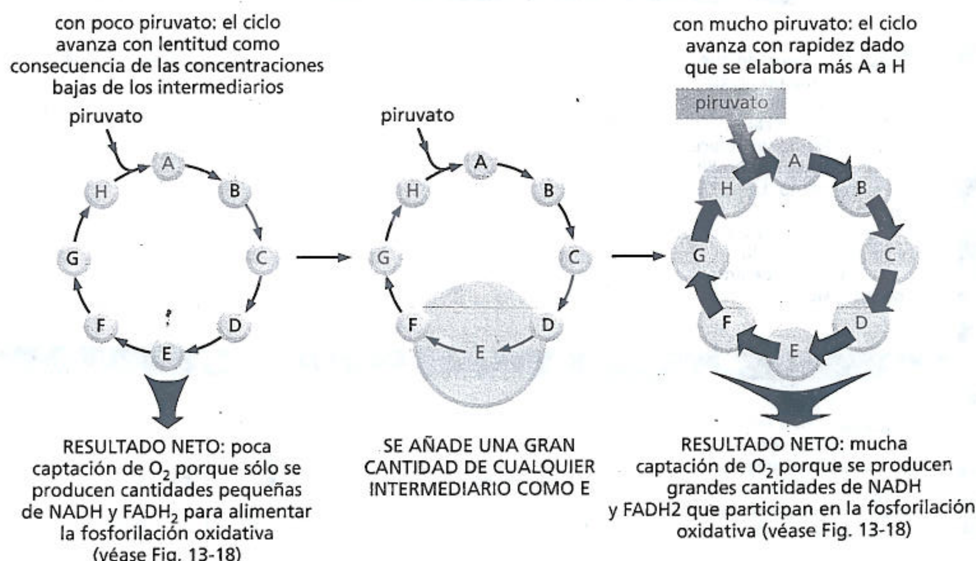
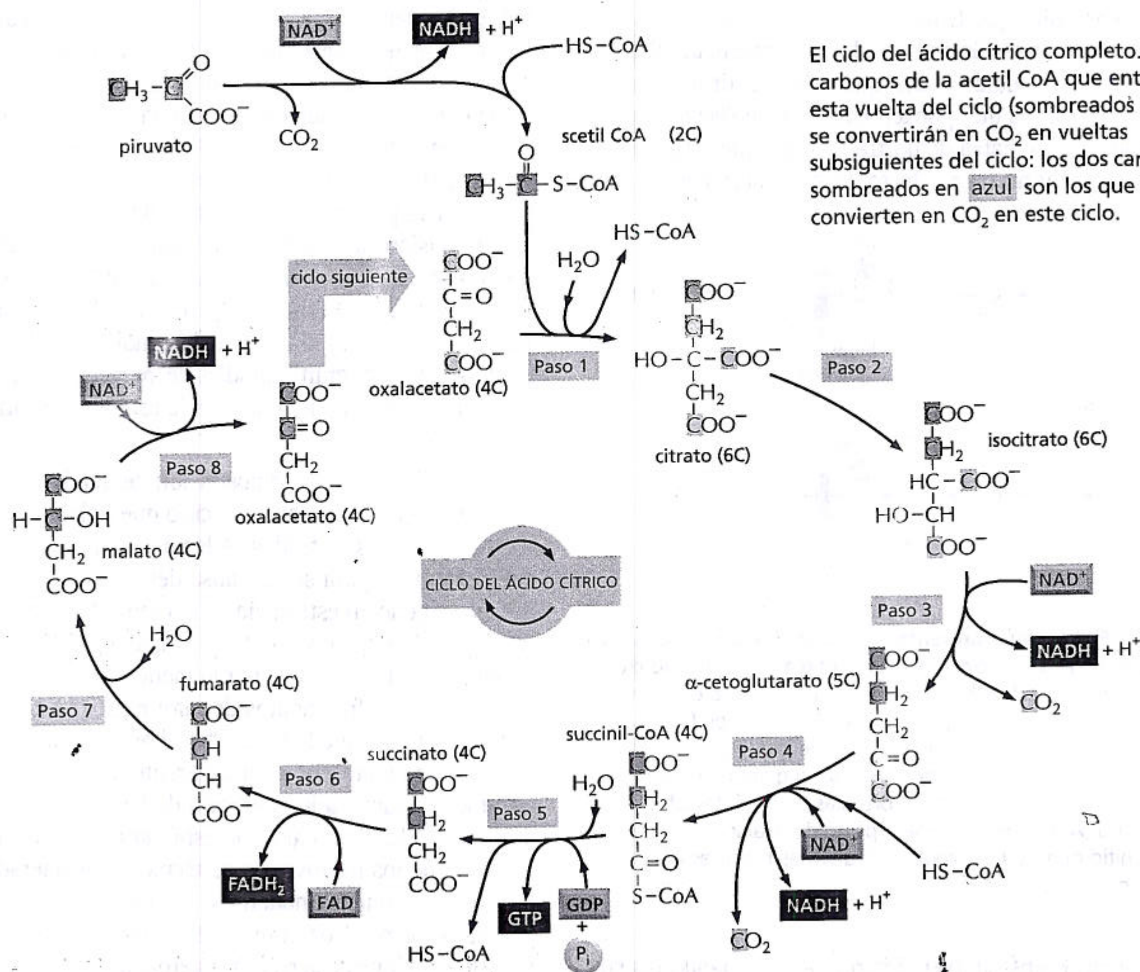


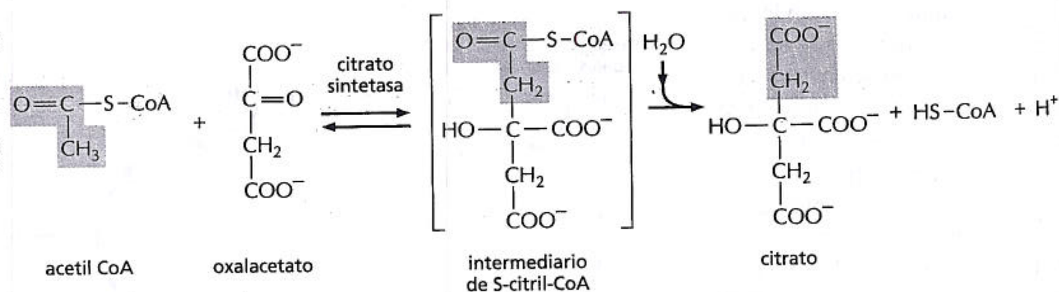
Figura 13-16. El restablecimiento de la provisión de cualquier intermediario individual tiene un efecto espectacular sobre la velocidad con la que opera todo el ciclo del ácido cítrico.

LÁMINA 13-2 El ciclo del ácido cítrico completo

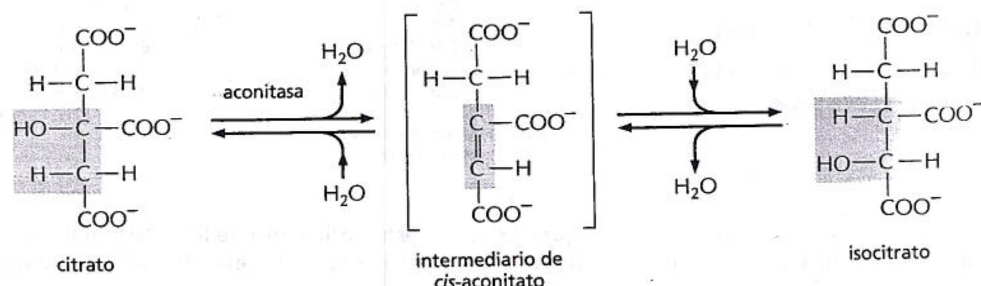


Aquí abajo se muestran los detalles de estos ocho pasos. En esta parte de la lámina, para cada paso, la parte de la molécula que sufre un cambio está sombreada en azul y el nombre de la enzima que cataliza la reacción se encuentra en un recuadro amarillo. Para un vídeo de las reacciones del ciclo del ácido cítrico, véase la **Película 13.2**.

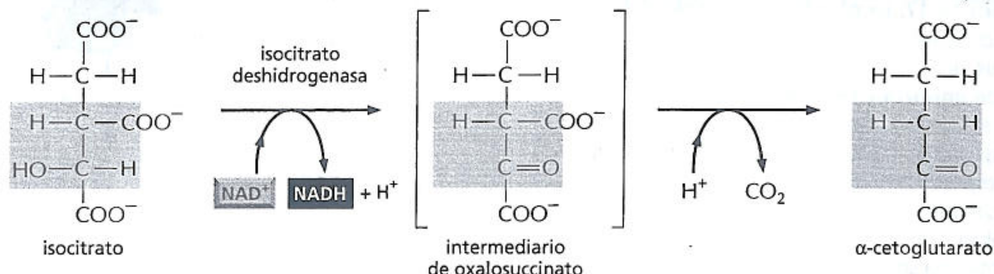
Paso 1 Luego de que la enzima extrae un protón del grupo CH_3 en la acetil CoA, el CH_2^- de carga negativa forma un enlace con un carbono carbonílico del oxalacetato. La pérdida subsiguiente de la coenzima A (CoA) por hidrólisis impulsa la reacción hacia adelante con intensidad.



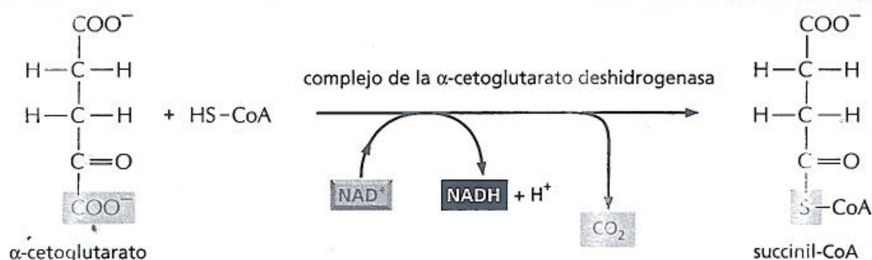
Paso 2 Una reacción de isomerización, en la cual primero se extrae agua y luego se la vuelve a añadir, mueve el grupo hidroxilo de un átomo de carbono a su vecino.



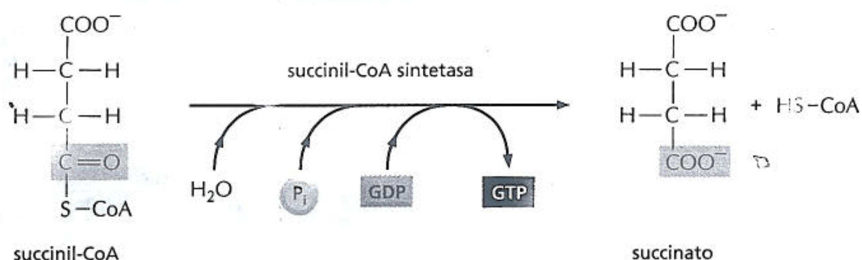
Paso 3 En el primero de cuatro pasos oxidativos del ciclo, el carbono que porta el grupo hidroxilo se convierte en un grupo carbonilo. El producto inmediato es inestable y pierde CO_2 cuando todavía está unido a la enzima.



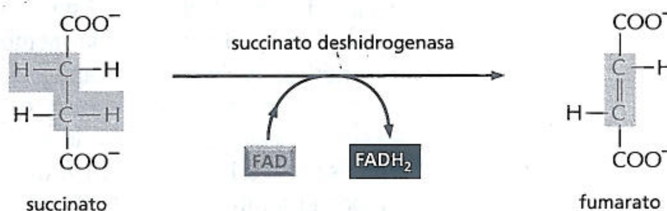
Paso 4 El *complejo de la α-cetoglutarato deshidrogenasa* se parece mucho al complejo enzimático grande que convierte el piruvato en acetil CoA (*piruvato deshidrogenasa*). Del mismo modo, cataliza una oxidación que produce NADH, CO_2 y un enlace tioéster de alta energía con la coenzima A (CoA).



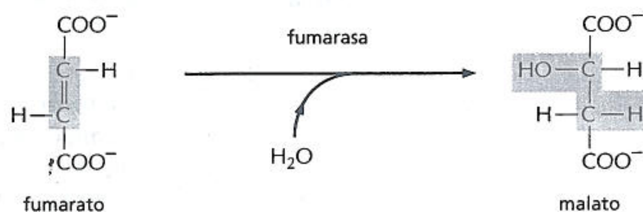
Paso 5 Una molécula de fosfato de la solución desplaza la CoA y forma un enlace fosfato de alta energía con el succinato. Luego, este fosfato se transfiere a GDP y forma GTP. (En cambio, en las bacterias y los vegetales se forma ATP).



Paso 6 En el tercer paso oxidativo del ciclo, el FAD extrae dos átomos de hidrógeno del succinato.



Paso 7 La adición de agua al fumarato ubica un grupo hidroxilo junto a un carbono carbonílico.



Paso 8 En el último de los cuatro pasos oxidativos del ciclo, el carbono que transporta el grupo hidroxilo se convierte en un grupo carbonilo, esto regenera el oxalacetato necesario para el paso 1.

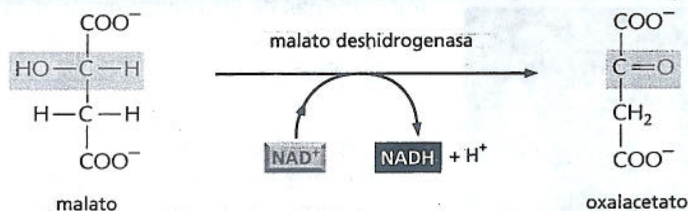
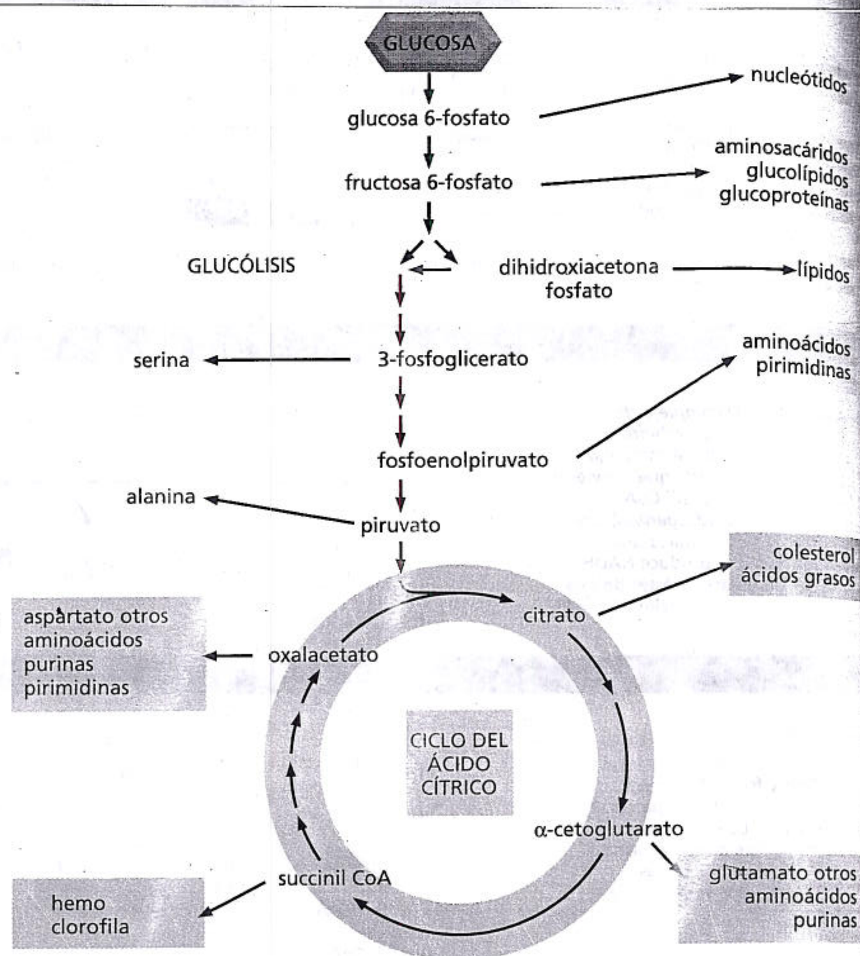


Figura 13-17. La glucólisis y el ciclo del ácido cítrico proveen los precursores necesarios para la síntesis de muchas moléculas de importancia biológica. Los aminoácidos, los nucleótidos, los lípidos, los carbohidratos y otras moléculas –que se ilustran aquí como productos– a su vez sirven como los precursores de las muchas macromoléculas de la célula. Cada flecha *negra* en este diagrama denota una sola reacción catalizada por una enzima; las flechas *rojas* en general representan vías con muchos pasos que se necesitan para generar los productos indicados.



na de transporte de electrones los electrones que han adquirido mediante la oxidación de otras moléculas. Esta cadena especializada de transportadores de electrones está incorporada en la membrana interna de la mitocondria en las células eucarióticas (y en la membrana plasmática en las bacterias). Conforme atraviesan la serie de moléculas aceptoras y dadoras de electrones que forman la cadena, los electrones caen en estados de energía cada vez más bajos. La energía liberada impulsa iones H^+ (protones) a través de la membrana, desde el compartimiento mitocondrial interno hacia afuera. Esto genera un gradiente transmembrana de iones H^+ que sirve como una fuente de energía (parecida a una batería) que puede impulsar una gran variedad de reacciones que necesitan energía (véase capítulo 12). En las mitocondrias, la más prominente de estas reacciones es la fosforilación de ADP que genera ATP.

Al final de la cadena de transporte, los electrones se añaden a moléculas de O_2 que se han difundido hacia el interior de la mitocondria; las moléculas de O_2 reducido resultantes se combinan simultáneamente con protones (H^+) de la solución circundante y producen agua. Ahora los electrones han alcanzado su nivel energético más bajo y se ha extraído toda la energía disponible de la molécula de alimento en proceso de oxidación. La generación de ATP que requiere oxígeno se denomina **fosforilación oxidativa** (Fig. 13-18). La fosforilación oxidativa ocurre en las mitocondrias de las células eucarióticas y en la membrana plasmática de las bacterias aerobias y constituye uno de los logros más extraordinarios de la evolución celular. Este proceso será el tema central del capítulo 14.

En total, la oxidación completa de una molécula de glucosa a H_2O y CO_2 produce unas 30 moléculas de ATP. (Para una explicación acerca de dónde provienen exactamente estos ATP, véase cuadro 14-1, p. 465.) En cambio, la glucólisis por sí sola permite la producción de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa.

PREGUNTA 13-4

Considerando la química detallada en la lámina 13-2 (pp. 442-443), ¿por qué supone que es útil unir el grupo acetilo primero a otro esqueleto carbonado, el oxalacetato, antes de oxidar completamente ambos carbonos a CO_2?

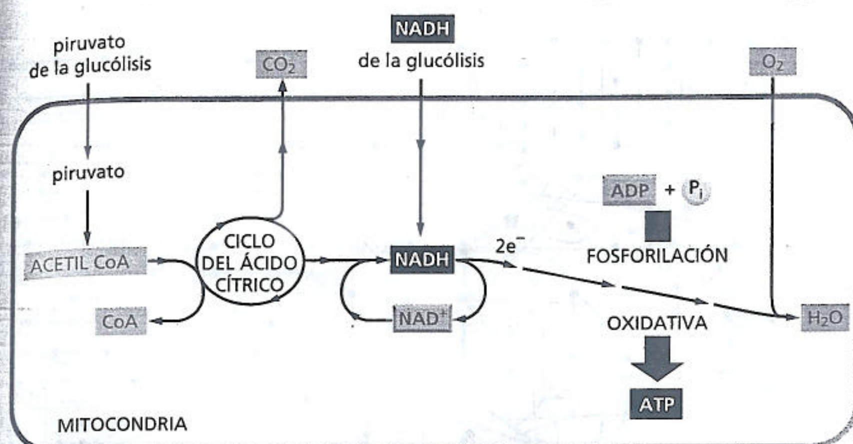


Figura 13-18. En las etapas finales de la oxidación de las moléculas de alimento, el NAD (y el $FADH_2$, que no se ilustra) producido por el ciclo del ácido cítrico cede electrones de alta energía que, por último, reducen el O_2 a agua. Una gran parte de la energía liberada durante una serie complicada de transferencias de electrones en la membrana mitocondrial interna (o en la membrana plasmática de las bacterias) se aprovecha para impulsar la síntesis de ATP mediante el proceso de la fosforilación oxidativa.

REGULACIÓN DEL METABOLISMO

Una célula es una máquina química intrincada y la explicación sobre el metabolismo (con el foco ajustado en la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico) sólo ha tocado una fracción minúscula de las muchas reacciones enzimáticas que pueden ocurrir en una célula en un momento cualquiera (Fig. 13-19). Para que todas estas vías funcionen con un buen equilibrio, como se necesita para permitir que la célula sobreviva y responda a su entorno, la elección de qué vía seguirá cada metabolito debe regularse con cuidado en cada punto de ramificación.

Muchos conjuntos de reacciones necesitan controlarse en forma precisa. Por ejemplo, todos los organismos necesitan reponer constantemente sus provisiones de ATP mediante la oxidación de carbohidratos o grasas (véase Fig. 13-10). Pero los animales sólo tienen acceso periódico al alimento y los vegetales necesitan sobrevivir de noche sin luz solar, cuando son incapaces de producir carbohidratos mediante la fotosíntesis. Los vegetales y los animales han desarrollado varias formas que resuelven este problema. Una consiste en sintetizar reservas de alimento en los momentos de abundancia que puedan consumirse más tarde cuando otras fuentes de energía sean escasas. De este modo, una célula debe controlar si metabolitos fundamentales se enviarán a vías anabólicas o catabólicas, en otras palabras, si recibirán el encargo de elaborar otras moléculas o irán a la degradación para proveer energía inmediata. En esta sección comentamos cómo las células regulan las intrincadas vías interconectadas que constituyen la base del metabolismo.

PREGUNTA 13-5

¿Qué hay de incorrecto, si acaso lo hay, en la siguiente afirmación? "El oxígeno consumido durante la oxidación de la glucosa en las células animales retorna a la atmósfera como parte del CO_2". ¿Cómo podría sustentar experimentalmente su respuesta?

Las reacciones catabólicas y anabólicas están organizadas y reguladas

Todas las reacciones que se muestran en la **figura 13-19** ocurren en una célula que mide menos de 0,1 mm de diámetro y cada paso necesita una enzima diferente. Para complicar las cosas, la misma molécula con frecuencia es una parte de muchas vías diferentes. El piruvato, por ejemplo, es un sustrato para media docena de enzimas distintas o más de ellas, cada una de las cuales lo modifica químicamente en una forma diferente. Como ya hemos visto, la piruvato deshidrogenasa convierte el piruvato en acetil CoA y la lactato deshidrogenasa lo convierte en lactato; una tercera enzima cambia el piruvato en oxalacetato; una cuarta, en aminoácido alanina, etcétera. Todas estas vías diferentes compiten por la misma molécula de piruvato y al mismo tiempo ocurren competencias semejantes por miles de otras moléculas pequeñas. Se podría creer que todo el sistema se encuentra en un estado de equilibrio tan preciso que cualquier trastorno menor, como un cambio temporal en la ingesta de alimento, sería desastroso.

En realidad, el equilibrio metabólico de una célula es sorprendentemente estable. Cuando el equilibrio se perturba, la célula reacciona y restaura el estado inicial: las

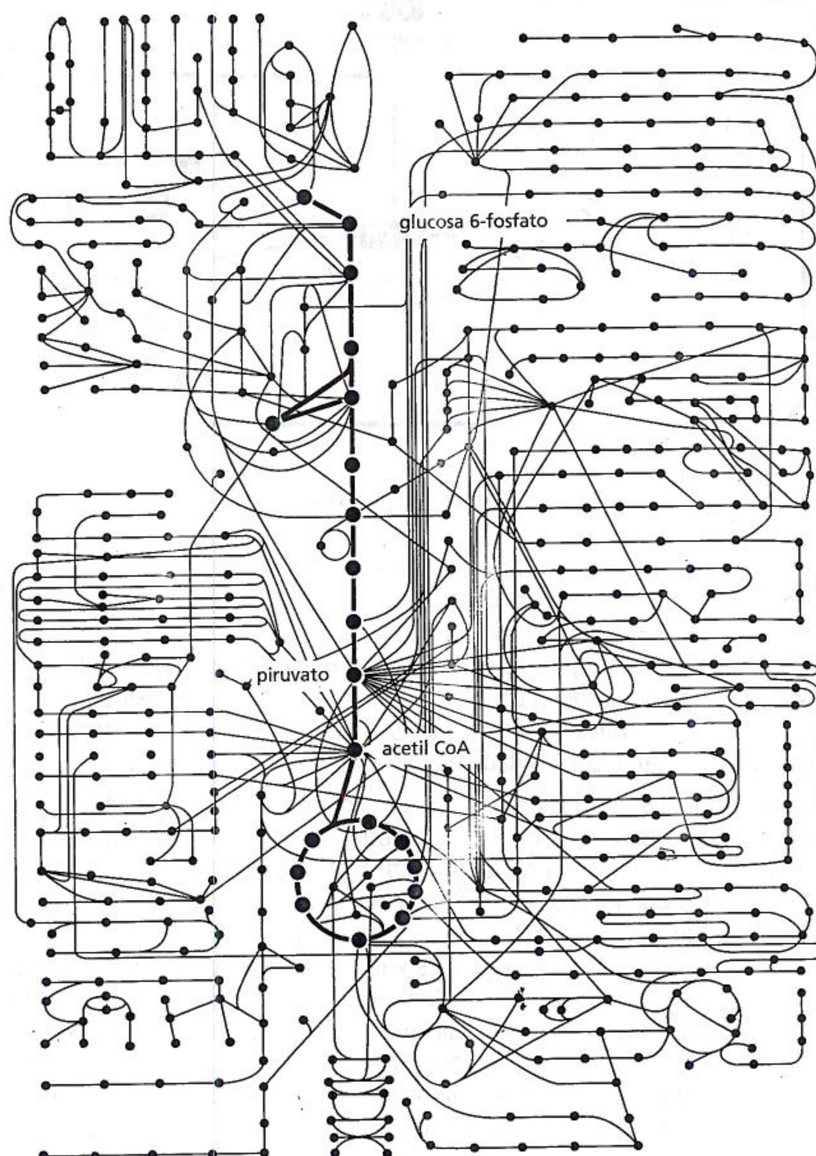


Figura 13-19. La glucólisis y el ciclo del ácido cítrico están en el centro del metabolismo. Se muestran en forma esquemática unas 500 reacciones metabólicas de una célula típica con las reacciones de la glucólisis y del ciclo del ácido cítrico en *rojo*. Otras reacciones llevan hacia estas dos vías centrales (y entregan moléculas pequeñas para su oxidación con lo cual obtienen energía) o conducen hacia afuera y por ello proveen compuestos de carbono para la biosíntesis. Los círculos representan moléculas en vías metabólicas diversas y las líneas que los conectan representan las reacciones enzimáticas que convierten un metabolito en otro.

células pueden adaptarse y continúan funcionando durante la inanición o la enfermedad. Esta resistencia es posible a causa de una red complicada de *mecanismos de control* que actúan sobre enzimas regulando y coordinando las velocidades de las muchas reacciones metabólicas en una célula.

Como vimos en el capítulo 4, la actividad de las enzimas puede controlarse de muchas formas diferentes. Muchas proteínas se activan (o inactivan) por una modificación covalente, como la adición o la extracción de un grupo fosfato (véase Fig. 4-38). En forma alternativa, sus actividades se pueden controlar por la unión de una molécula reguladora pequeña (a menudo un metabolito) a una enzima alostérica (véanse las pp. 151-152). Este tipo de regulación puede ser positiva y aumentar la actividad de la enzima o negativa e inhibirla. Como veremos a continuación, ambos tipos de regulación (positiva y negativa) controlan la actividad de enzimas clave que intervienen en la glucólisis.

PREGUNTA 13-6

Una vía de reacción cíclica necesita que el material de inicio se regenere y esté disponible al final de cada ciclo. Si los compuestos del ciclo del ácido cítrico se desvían como unidades estructurales utilizadas en una gran variedad de reacciones metabólicas, ¿por qué el ciclo del ácido cítrico no se detiene con rapidez?

La regulación por retrocontrol permite que las células pasen de degradación a biosíntesis de glucosa

El organismo necesita un suministro continuo de glucosa para satisfacer sus necesidades metabólicas. Por ejemplo, las células del encéfalo dependen casi por com-

pleto de la glucosa para la respiración. Durante los períodos de inanición y durante el ejercicio físico intenso, la glucosa de la sangre se consume más rápidamente de lo que se repone a partir de los alimentos. Una forma de restablecer la glucosa sanguínea consiste en sintetizarla a partir de moléculas orgánicas pequeñas diferentes de los carbohidratos, como el lactato, el piruvato o los aminoácidos en un proceso denominado **gluconeogénesis**. Un modelo intrincado de regulación por retrocontrol permite que las células pasen de la degradación de la glucosa por glucólisis a la síntesis de esta hexosa por gluconeogénesis.

La mayor parte de las reacciones que intervienen en la degradación de la glucosa a piruvato es fácilmente reversible. Sin embargo, tres de las reacciones (pasos 1, 3 y 10, Lámina 13-1) son irreversibles. En realidad, el gran cambio negativo de la energía libre que ocurre en estas reacciones es el que normalmente impulsa la degradación de la glucosa. Para que la vía progrese en la dirección opuesta (para que elabore glucosa a partir de piruvato) estas tres reacciones deben saltearse. Este desvío se logra mediante la sustitución de un conjunto de "reacciones de salteo" alternativas, catalizadas por enzimas, que requieren el suministro de energía química (reacciones A, B, C y D, Fig. 13-20). Así, las reacciones que sintetizan una molécula de glucosa en la gluconeogénesis necesitan la hidrólisis de cuatro moléculas de ATP y dos de GTP, en comparación con la generación total de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa consumida durante la glucólisis.

En los seres humanos y en otros mamíferos la gluconeogénesis ocurre sobre todo en las células hepáticas, que pueden mantener el abastecimiento de glucosa en la sangre mediante el uso de muchas moléculas diferentes como punto de inicio. Un aporte común es el lactato: esta molécula, producida por las células musculares agotadas, es captada por el hígado donde vuelve a convertirse en glucosa que reabastece los músculos agotados. El equilibrio entre glucólisis y gluconeogénesis debe regularse con precisión, de modo que la glucosa se degrade con rapidez cuando se reducen las reservas de energía, pero se sintetice y se exporte a otros tejidos cuando la célula hepática tiene reservas energéticas suficientes en la forma de piruvato, citrato o ATP. Si se permitiese que las reacciones anterógradas y retrógradas de la figura 13-20 continuaran sin restricción, transportarían metabolitos de aquí para allá en ciclos inútiles que consumirían grandes cantidades de energía y generarían calor sin ningún propósito.

Uno de los puntos de control fundamentales en la degradación de la glucosa está en el paso 3 de la glucólisis, la producción de fructosa 1,6-bifosfato por la enzima fosfofructocinasa. Esta es una de las reacciones que deben saltearse en la gluconeogénesis (véase el paso 3, Fig. 13-20 o Lámina 13-1, p.430). La fosfofructocinasa es activada alostéricamente por AMP, ADP y fosfato inorgánico (los subproductos de la hidrólisis del ATP); es inhibida alostéricamente por ATP, citrato y combustibles alternativos de la respiración, como los ácidos grasos, los que pueden liberarse desde la grasa almacenada cuando no hay glucosa disponible. Así, cuando las reservas de energía están bajas y los productos de la hidrólisis del ATP se acumulan, la fosfofructocinasa se activa y la glucólisis continúa. En cambio, cuando el ATP o las fuentes de combustible (representadas por el citrato y los ácidos grasos) son abundantes, la fosfofructocinasa se inactiva favoreciendo la glu-

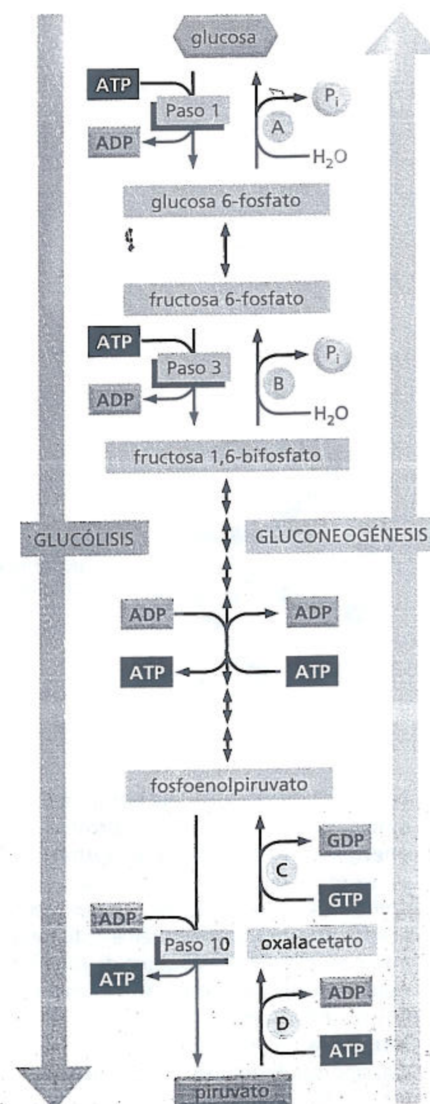


Figura 13-20. La gluconeogénesis "invierte" con eficacia las reacciones que ocurren durante la glucólisis. Un conjunto de cuatro reacciones de salteo (identificadas con las letras A a D) se necesita para eludir los pasos 1, 3 y 10 de la glucólisis, que en esencia son irreversibles. Como se puede ver, las reacciones de síntesis que ocurren en la gluconeogénesis necesitan un suministro de energía, mientras que la glucólisis en conjunto consiste en un grupo de reacciones energéticamente favorables. Para no perder de vista la energía producida o consumida en estos procesos, recuérdese que durante la glucólisis la fructosa 1,6-bifosfato se desdobla formando dos carbohidratos de 3 carbonos (que no se ilustran). Por lo tanto, en todas las reacciones que siguen, ya sean parte de la glucólisis o la gluconeogénesis, participan dos carbohidratos (y el doble de la cantidad de transportadores de energía) para cada molécula de glucosa que se consume o que se produce.

coneogénesis y, en última instancia, el almacenamiento de moléculas de alimento. Para agregar un nivel de control adicional, la enzima que cataliza la reacción inversa (fructosa 1,6-bifosfatasa; véase la reacción de salteo B, Fig. 13-20), es regulada por las mismas moléculas, pero en la dirección opuesta. Así, esta enzima se activa cuando la fosfofructocinasa se inactiva. Estos mecanismos reguladores coordinados permiten que una célula responda con rapidez ante los cambios de las condiciones ambientales y ajuste su metabolismo de acuerdo con el caso.

Las células almacenan moléculas de alimento en reservorios especiales que se utiliza en los períodos de necesidad

Como hemos visto, la gluconeogénesis es un proceso costoso que necesita cantidades sustanciales de energía proveniente de la hidrólisis de ATP y GTP. Por lo tanto, no puede operar en forma indefinida. Los animales almacenan reservas de sustancias nutritivas dentro de las células que se puede utilizar en los largos períodos en que no hay disponibilidad de alimento. La glucosa se almacena como subunidades del **glucógeno**, un polisacárido ramificado grande que se encuentra en forma de gránulos pequeños en el citoplasma de muchas células, sobre todo las hepáticas y musculares (**Fig. 13-21**; véase también **Lámina 2-3, pp.68-69**). La síntesis y la degradación del glucógeno ocurren por medio de vías metabólicas bastante separadas, que se pueden regular con rapidez y coordinación según la necesidad. Cuando se requiere más ATP del que se puede generar a partir de las moléculas de alimento incorporadas desde el torrente sanguíneo, las células degradan glucógeno en una reacción que produce *glucosa 1-fosfato*, la que luego se convierte en glucosa 6-fosfato que entra en la vía glucolítica.

Las vías de síntesis y degradación del glucógeno están coordinadas por enzimas en cada vía que se hallan reguladas alostéricamente por la glucosa 6-fosfato, pero en direcciones opuestas: la *glucógeno sintetasa* en la vía sintética es activada por la glucosa 6-fosfato, mientras que la *glucógeno fosforilasa*, que cataliza la degradación del glucógeno, es inhibida tanto por la glucosa 6-fosfato como por el ATP. Esta regulación contribuye a impedir la degradación del glucógeno cuando hay abundancia de ATP y favorece su síntesis cuando la concentración de glucosa

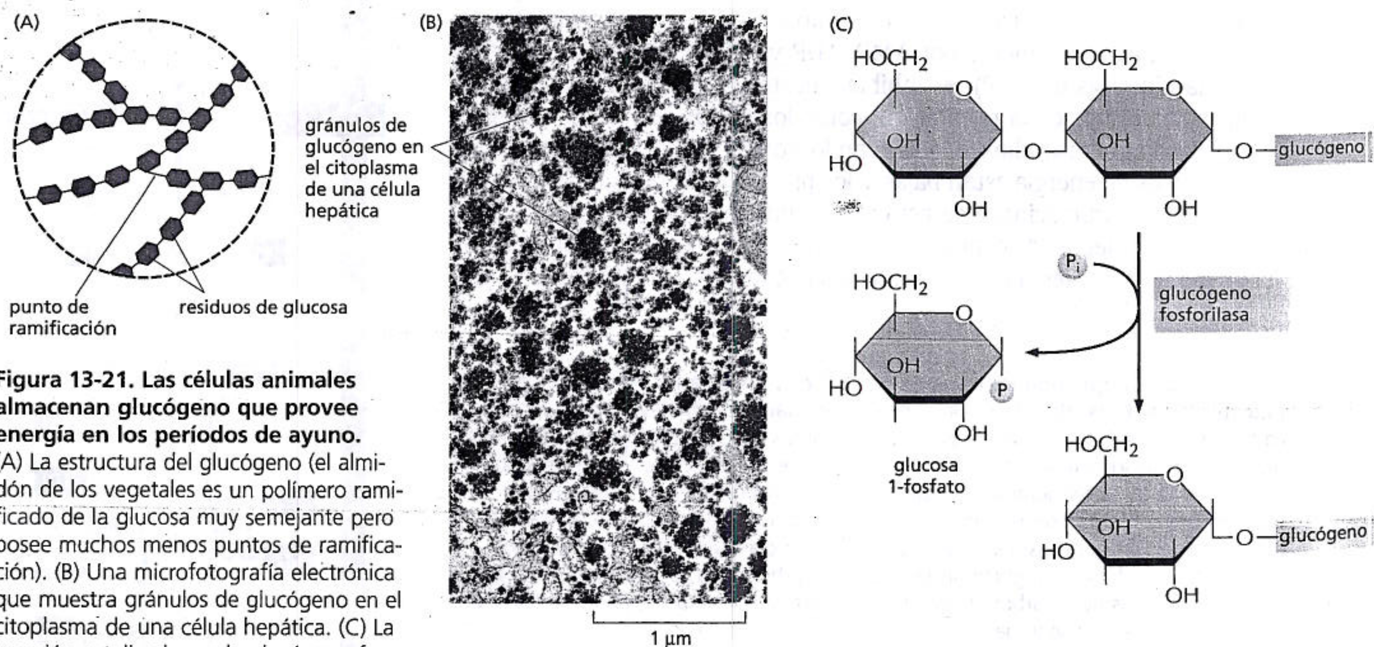


Figura 13-21. Las células animales almacenan glucógeno que provee energía en los períodos de ayuno. (A) La estructura del glucógeno (el almidón de los vegetales es un polímero ramificado de la glucosa muy semejante pero posee muchos menos puntos de ramificación). (B) Una microfotografía electrónica que muestra gránulos de glucógeno en el citoplasma de una célula hepática. (C) La reacción catalizada por la glucógeno fosforilasa. (B, gentileza de Robert Fletterick y Daniel S. Friend).

6-fosfato es alta. El equilibrio entre la síntesis y la degradación del glucógeno también es regulado por vías de señalización intracelulares que son controladas por las hormonas insulina, adrenalina y glucagón (véase cuadro 16-1, p. 535 y Fig. 16-23, p. 550).

Desde el punto de vista cuantitativo, las grasas son un material de reserva mucho más importante que el glucógeno, en parte porque la oxidación de un gramo de grasas libera alrededor de dos veces más energía que la oxidación de un gramo de glucógeno. Además, el glucógeno fija una gran cantidad de agua y produce una diferencia seis veces mayor en la masa real de glucógeno necesario para almacenar la misma cantidad de energía que las grasas. En promedio, un ser humano adulto almacena suficiente glucógeno sólo para más o menos un día de actividad normal, pero grasas suficientes para perdurar casi un mes. Si nuestras reservas principales de combustible tuviesen que guardarse como glucógeno en lugar de grasas, el peso corporal necesitaría aumentar en promedio casi 30 kilogramos.

Nuestras grasas en su mayoría se almacenan en la forma de inclusiones de triacilgliceroles insolubles en agua en las células del tejido adiposo especializado (**Fig. 13-22**; véase también Lámina 2-4, pp.70-71). En respuesta a señales hormonales, desde estos depósitos pueden liberarse ácidos grasos hacia el torrente sanguíneo que los pueden utilizar otras células según sea necesario. Esta necesidad surge luego de un período de inanición; incluso el ayuno nocturno normal produce la movilización de grasas. Por la mañana, la mayor parte de la acetil CoA que entra en el ciclo del ácido cítrico deriva de ácidos grasos en lugar de glucosa. Pero después de una comida, la mayor parte de la acetil CoA que entra en el ciclo del ácido cítrico proviene de glucosa derivada de los alimentos y cualquier exceso de glucosa se utiliza en el restablecimiento de los depósitos de glucógeno agotados o en la síntesis de grasas. (Aunque pueden convertir carbohidratos en grasas con facilidad, las células animales no pueden convertir ácidos grasos en carbohidratos).

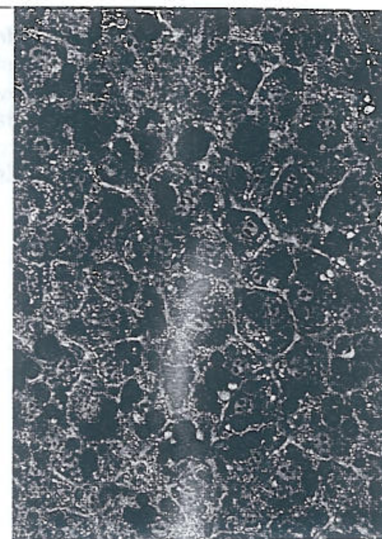


Figura 13-22. En las células animales las grasas se almacenan en la forma de inclusiones lipídicas. Inclusiones lipídicas (teñidas de *rojo*) que comienzan a acumularse en células adiposas en desarrollo. (Gentileza de Peter Tontonoz y Ronald M. Evans).

Las reservas de alimento tanto de animales como de vegetales forman una parte vital de la dieta humana. Los vegetales convierten una parte de los monosacáridos que elaboran por medio de la fotosíntesis durante el día en grasas y en **almidón**, un polímero de la glucosa ramificado muy semejante al glucógeno de los animales. Las grasas en los vegetales son triacilgliceroles, igual que las grasas en los animales, y sólo difieren en los tipos de ácidos grasos que predominan.

Los embriones dentro de las semillas de los vegetales deben vivir durante mucho tiempo de las reservas de alimento almacenadas hasta que germinen y produzcan hojas que pueden obtener la energía de la luz solar. El embrión utiliza estos depósitos como fuentes de energía y las moléculas pequeñas en la producción de paredes celulares y en la síntesis de otras muchas moléculas biológicas conforme se desarrolla. Por esta razón, las semillas de los vegetales con frecuencia contienen cantidades especialmente abundantes de grasas y almidón, lo cual las torna en una fuente principal de alimento para los animales, incluidos nosotros (**Fig. 13-23**). Las semillas que germinan convierten las grasas y el almidón almacenados en glucosa según la necesidad.

PREGUNTA 13-7

Luego de considerar las estructuras de los carbohidratos y los ácidos grasos (que se comentan en el capítulo 2), ofrezca una explicación intuitiva de por qué la oxidación de un monosacárido suministra sólo alrededor de la mitad de la energía que la oxidación de un peso seco equivalente de un ácido graso.

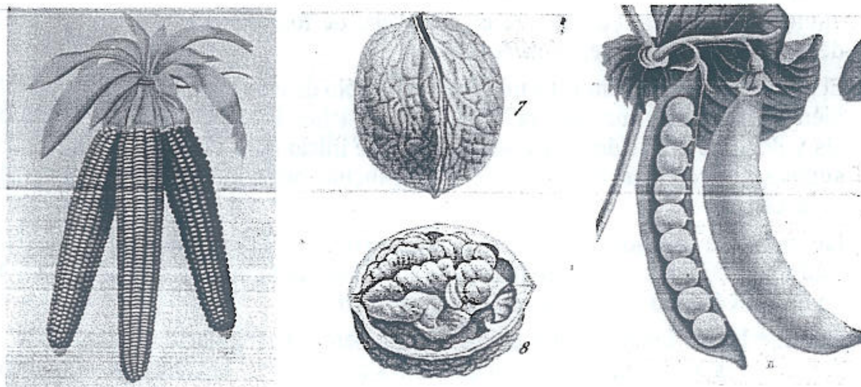


Figura 13-23. Algunas semillas vegetales son fuente de alimento importante para los seres humanos. El maíz, las nueces y los guisantes contienen depósitos abundantes de almidón y grasas que proveen energía y materia prima para la biosíntesis al joven embrión vegetal en la semilla. (Gentileza de la John Innes Foundation).

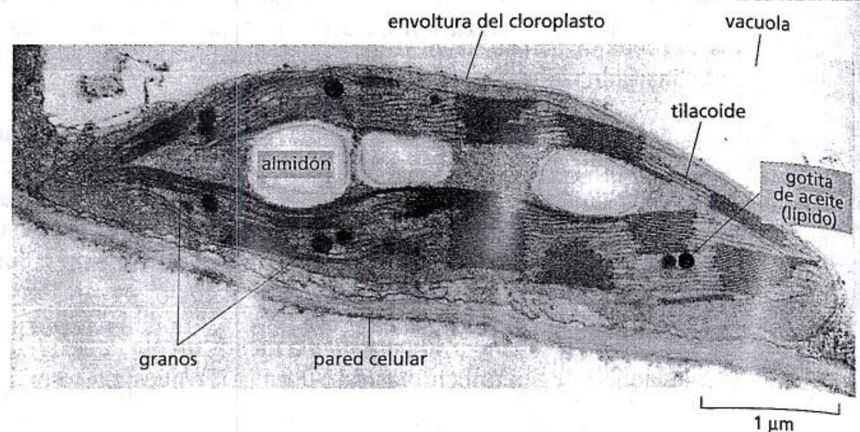


Figura 13-24. Las células vegetales almacenan almidón y grasas en sus cloroplastos. Un corte fino de un cloroplasto individual de una célula vegetal que muestra los gránulos de almidón y las inclusiones lipídicas que se han acumulado como consecuencia de los procesos de biosíntesis que ocurren allí. (Gentileza de K. Plaskitt).

En los vegetales, las grasas y el almidón se almacenan en el cloroplasto, un orgánulo especializado que realiza la fotosíntesis en las células vegetales (Fig. 13-24). Allí funcionan como reservorios de alimento que se movilizan y producen ATP durante los períodos de oscuridad.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La glucosa y otras moléculas de alimento se degradan por oxidación gradual controlada lo que provee energía química útil en la forma de los transportadores activados ATP y NADH.
- Los carbohidratos derivados de los alimentos se degradan por conjuntos definidos de reacciones: la glucólisis (que ocurre en el citosol), el ciclo del ácido cítrico (en la matriz mitocondrial) y la fosforilación oxidativa (en la membrana mitocondrial interna).
- Las reacciones de la glucólisis degradan el monosacárido de seis carbonos glucosa en dos moléculas del carbohidrato de tres carbonos piruvato con la producción de una cantidad relativamente pequeña de ATP y NADH.
- En presencia de oxígeno, el piruvato se convierte en acetil CoA más CO_2. Luego, el ciclo del ácido cítrico convierte el grupo acetilo de la acetil CoA en CO_2 y H_2O. Una gran parte de la energía liberada en estas reacciones oxidativas se almacena como electrones de alta energía en los transportadores activados NADH y $FADH_2$. En las células eucariontes todas estas reacciones ocurren en las mitocondrias.
- La otra fuente principal de energía en los alimentos es la grasa. Los ácidos grasos producidos a partir de la digestión de las grasas se importan a las mitocondrias y se convierten en moléculas de acetil CoA. Luego, estas moléculas de acetil CoA continúan su oxidación en el ciclo del ácido cítrico y producen NADH y $FADH_2$, en la misma forma que la acetil CoA derivada del piruvato.
- El NADH y el $FADH_2$ transfieren sus electrones de alta energía a una cadena de transporte de electrones en la membrana mitocondrial interna, donde se utiliza una serie de transferencias de electrones que impulsa la formación de ATP. La mayor parte de la energía capturada durante la degradación de las moléculas de alimento se aprovecha durante este proceso de fosforilación oxidativa (que se describe en detalle en el capítulo 14).
- El alimento que ingerimos es una fuente no sólo de energía metabólica sino también de materia prima para la biosíntesis. Muchos intermediarios de la glucólisis y del ciclo del ácido cítrico son puntos de inicio para vías que conducen a la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos y muchas otras moléculas especializadas de la célula.
- Las miles de reacciones diferentes que ocurren simultáneamente en una célula están coordinadas con precisión, esto le permite adaptarse y seguir funcionando en un espectro amplio de condiciones externas.
- Durante los períodos en que escasea el alimento, la regulación de las actividades de unas pocas enzimas fundamentales permite que la célula pase de degradación a biosíntesis de glucosa (gluconeogénesis).

- Las células almacenan moléculas de alimento en reservorios especiales. Las subunidades de glucosa se almacenan como glucógeno en los animales y como almidón en los vegetales; tanto los animales como los vegetales almacenan los ácidos grasos en la forma de grasas. Las reservas de alimento almacenadas por los vegetales son fuentes principales de alimento para los animales, incluidos los seres humanos.

PALABRAS CLAVE

acetil CoA	GDP, GTP
ADP, ATP	glucógeno
almidón	glucólisis
cadena de transporte de electrones	gluconeogénesis
catabolismo	glucosa
ciclo del ácido cítrico	grasa
FAD, $FADH_2$	NAD^+, NADH
fermentación	piruvato
fosforilación oxidativa	

PREGUNTAS

PREGUNTA 13-8

La oxidación de las moléculas de carbohidrato por las células ocurre de acuerdo con la reacción general $C_6H_{12}O_6$ (glucosa) + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ + energía. ¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Explique sus respuestas.

A. Toda la energía se produce en forma de calor.

B. Nada de la energía se produce en forma de calor.

C. La energía se produce por un proceso que comprende la oxidación de átomos de carbono.

D. La reacción provee de agua esencial a la célula.

E. En las células, la reacción ocurre en más de un paso.

F. Muchos pasos en la oxidación de las moléculas de carbohidrato comprenden la reacción con el gas oxígeno.

G. Algunos organismos realizan la reacción inversa.

H. Algunas células que proliferan en ausencia de O_2 producen CO_2.

PREGUNTA 13-9

Un instrumento muy sensible (todavía no inventado) muestra que uno de los átomos de carbono en el último aliento de Charles Darwin se encuentra en el torrente sanguíneo de usted, donde forma parte de una molécula de hemoglobina. Indique cómo este átomo de carbono podría haber viajado desde Darwin hasta usted y elabore una lista de algunas de las moléculas en las que podría haberse introducido en su camino.

PREGUNTA 13-10

Las células de levadura pueden proliferar tanto en presencia de O_2 (aerobiosis) como en su ausencia (anaerobiosis). ¿En cuál de las dos condiciones esperaría usted que las células proliferasen mejor? Explique su respuesta.

PREGUNTA 13-11

Durante el movimiento, las células musculares necesitan grandes cantidades de ATP para abastecer su aparato contráctil. Estas células contienen una concentración elevada de creatina fosfato (véase Fig. 13-7). ¿Por qué es un compuesto útil para almacenar energía? Justifique su respuesta con la información que se muestra en la figura 13-7.

PREGUNTA 13-12

En la mayoría de las células vivas, desde las bacterias hasta los seres humanos, se encuentran vías idénticas que forman la complicada secuencia de reacciones de la glucólisis, que se ilustra en la lámina 13-1 (pp. 430-431). Sin embargo, se podría imaginar innumerables mecanismos de reacciones químicas alternativos que permitirían la oxidación de moléculas de carbohidrato y que, en principio, podrían haber evolucionado ocupando el sitio de la glucólisis. Comente este hecho en el contexto de la evolución.

PREGUNTA 13-13

Suponga que una célula animal es un cubo que tiene un lado de una longitud de 10 μm. La célula contiene 10^9 moléculas de ATP que consume cada minuto. El ATP se regenera mediante la oxidación de moléculas de glucosa. ¿Después de cuánto tiempo la célula habrá consumido una cantidad de gas oxígeno que es igual a su propio volumen? (Recuérdese que un mol contiene 6×10^{23} moléculas. Un mol de un gas tiene un volumen de 22,4 litros).

PREGUNTA 13-14

En las condiciones que existen en la célula, las energías libres de las primeras reacciones de la glucólisis (Lámina 13-1, pp. 430-431) son:

Paso 1 ΔG = -8,0 kcal/mol (–33,4 kJ/mol)

Paso 2 ΔG = -0,6 kcal/mol (-2,5 kJ/mol)

Paso 3 ΔG = -5,3 kcal/mol (-22,2 kJ/mol)

Paso 4 ΔG = -0,3 kcal/mol (-1,3 kJ/mol)

¿Estas reacciones son energéticamente favorables? Utilizando estos valores dibuje a escala un diagrama energético (A) para la reacción global y (B) para la vía compuesta por las cuatro reacciones individuales.

PREGUNTA 13-15

La química de la mayor parte de las reacciones metabólicas se dilucidó mediante la síntesis de metabolitos provistos de átomos que son isótopos diferentes de los que se encuentran naturalmente. Los productos de reacciones que comienzan con metabolitos marcados por medio de isótopos pueden analizarse para determinar con precisión qué átomos presentes en los productos derivan de átomos en el material de inicio y de cuáles derivan. Los métodos de detección aprovechan, por ejemplo, el hecho de que los isótopos diferentes tienen masas distintas que pueden distinguirse utilizando técnicas biofísicas como la espectrometría de masa. Además, algunos isótopos son radiactivos y, por lo tanto, pueden identificarse con facilidad mediante el uso de contadores de electrones o película fotográfica que se expone por la radiación.

A. Supóngase que un piruvato provisto de ^{14}C radiactivo en su grupo carboxilo se añade a un extracto celular que puede sustentar fosforilación oxidativa. ¿Cuál de las moléculas producidas debería contener la amplia mayoría del ^{14}C que se añadió?

B. Supóngase que un oxalacetato provisto de ^{14}C radiactivo en su grupo ceto se añade al extracto (véase Lámina 13-2, pp. 442-443). ¿Dónde debería situarse el átomo de ^{14}C luego de exactamente una vuelta del ciclo?

PREGUNTA 13-16

En las células que pueden proliferar tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, la fermentación se inhibe en presencia de oxígeno. Indique una razón para este hallazgo.



CAPÍTULO **CATORCE** 14

Generación de energía en mitocondrias y cloroplastos

La necesidad básica de generar energía en forma eficaz tiene una profunda influencia en la historia de la vida sobre la Tierra. Gran parte de la estructura, la función y la evolución de las células y los organismos puede relacionarse con la necesidad de energía. Las células primitivas pueden haber producido ATP por la degradación de moléculas orgánicas que aparecieron por procesos geoquímicos primitivos que producían algún mecanismo de fermentación. Las reacciones de fermentación tienen lugar en el citosol de las células actuales. Como se describió en el capítulo 13, estas reacciones utilizan la energía procedente de la oxidación parcial de moléculas de alimentos que tienen alto contenido en energía y forman ATP, la moneda circulante de energía química de las células.

Pero en etapas muy tempranas de la historia de la vida apareció un método mucho más eficiente que genera energía y sintetiza ATP. Este proceso se basa en el transporte de electrones a lo largo de las membranas. Miles de millones de años después, se hizo tan importante para la supervivencia en la Tierra, que le dedicaremos a ese proceso todo este capítulo. Como veremos, ese mecanismo de membrana es usado por las células para obtener energía de una amplia variedad de fuentes: por ejemplo, es esencial para la conversión de la energía lumínica en energía de enlaces químicos mediante la fotosíntesis, y para la respiración aeróbica que permite utilizar el oxígeno para producir grandes cantidades de ATP a partir de las moléculas alimenticias. El mecanismo que describiremos apareció por primera vez en las bacterias hace 3 mil millones de años. Los descendientes de estas células poblaron todos los rincones y grietas de la tierra y de los océanos con una enorme variedad de formas vivientes y sobreviven en las células eucariontes en forma de cloroplastos y mitocondrias.

De dónde venimos y cómo estamos relacionados con otros seres vivos es un rompecabezas que fascinó al ser humano desde el comienzo de los tiempos históricos. La historia que podemos referir ahora, resuelta por medio de una extensa cadena de investigaciones científicas, es una de las crónicas más interesantes y dramáti-

cas jamás contadas. Y todavía no ha terminado. Cada año, nuevos descubrimientos en la biología celular permiten sumar más detalles gracias al minucioso trabajo de la investigación molecular, cuyo potencial crece en forma vertiginosa.

La provisión de una fuente abundante de energía para las células fue absolutamente básica para la progresión de la vida. En este capítulo se describirá el extraordinario mecanismo que lo hizo posible.

Las células obtienen la mayor parte de su energía por un mecanismo que ocurre en la membrana

La principal moneda energética de las células es el ATP (véase Fig. 3-32). En las células eucariontes se forman pequeñas cantidades de ATP en el citosol durante la glucólisis, pero la mayor parte se produce por fosforilación oxidativa en las mitocondrias (como se analiza en el capítulo 13). El mecanismo por el que se produce esta gran cantidad de ATP en las mitocondrias difiere de cómo se produce el ATP por glucólisis en el que participa una membrana: la fosforilación oxidativa depende del transporte de electrones dentro de la membrana mitocondrial y del transporte de iones a través de ella. Un proceso similar de generación de ATP sucede en las membranas plasmáticas de muchas bacterias. El mecanismo para la generación del ATP basado en las membranas comenzó muy tempranamente en la historia de la vida y fue tan eficiente que sus características esenciales permanecieron a lo largo del prolongado viaje evolutivo desde los primitivos procariontes hasta las células actuales. En las bacterias fotosintéticas, los vegetales y las algas, un proceso relacionado con la membrana produce ATP durante la fotosíntesis.

El proceso consiste en dos fases relacionadas, en las cuales intervienen complejos proteicos localizados en la membrana.

Fase 1. Los electrones procedentes de la oxidación de las moléculas de los alimentos (descritos en el capítulo 13) o de otras fuentes (que se describirán más adelante) se transfieren mediante una serie de transportadores de electrones, que se denomina **cadena transportadora de electrones**, situados en la membrana. Esta transferencia de electrones libera energía que bombea protones (H^+) procedentes del agua que se encuentra en todas las células a través de la membrana y genera así un gradiente electroquímico de protones (**Fig. 14-1A**). El gradiente iónico a través de una membrana es una forma de almacenamiento de energía que puede ser aprovechada para realizar un trabajo útil cuando los iones fluyen nuevamente a través de la membrana a favor de su gradiente electroquímico (como se describió en el capítulo 12).

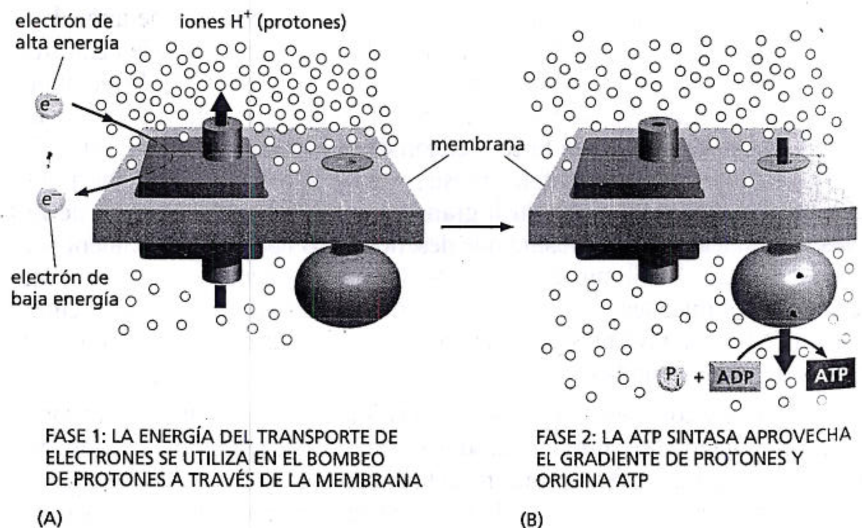


Figura 14-1. Las células desarrollaron sistemas que utilizan la energía necesaria para la vida. (A). Los requerimientos esenciales para la quimiósmosis son una membrana, en la que se aloja una bomba proteica y una ATP sintasa, y fuentes de electrones (e-) de alta energía y de protones (H+). La bomba aprovecha la energía de la transferencia de electrones (los detalles no se muestran en esta figura) en el bombeo de los protones procedentes del agua y en la generación de un gradiente de protones a través de la membrana. La fuente de los electrones ricos en energía puede ser la luz solar o moléculas orgánicas o inorgánicas. (B). El gradiente generado en (A) actúa como un depósito versátil de energía. Se utiliza en la activación de diversas reacciones que requieren energía en las mitocondrias, los cloroplastos, y las bacterias, como la síntesis de ATP por la ATP sintasa. La *flecha roja* indica la dirección del movimiento de los protones en cada fase.

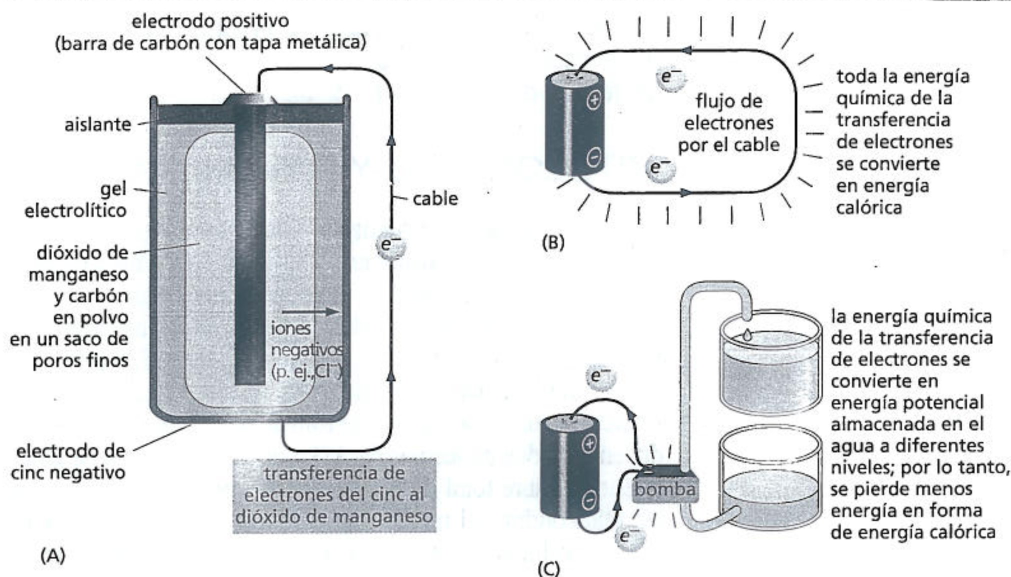


Figura 14-2. Las baterías eléctricas se activan por reacciones químicas que se basan en la transferencia de electrones. (A). Cuando se conecta una pila estándar de una linterna en un circuito, el flujo de electrones desde el recipiente metálico, formado por cinc (Zn), al átomo de manganeso del dióxido de manganeso (MnO_2) se forman como productos Zn^{2+} y óxido de manganeso (MnO) –el carbono de la pila tiene solamente la función de conducir los electrones–. (B). Si los terminales de la pila están directamente conectados uno con el otro, toda la energía liberada por la transferencia de electrones se transforma en calor. (C). En cambio, si se conecta la pila a una bomba, gran parte de esta energía puede ser utilizada para realizar un trabajo (en este caso, bombear agua). Las células pueden aprovechar de una manera similar la energía de la transferencia de electrones en un mecanismo de bombeo, como se ilustra en la figura 14-1.

Fase 2. El H^+ vuelve a fluir a favor de su gradiente electroquímico mediante un complejo proteico denominado *ATP sintasa*, que cataliza la síntesis del ATP, proceso que requiere energía a partir del ADP y el fosfato inorgánico (Pi). Esta enzima ubicua cumple la función de una turbina, ya que hace posible que el gradiente de protones impulse la producción de ATP (Fig. 14-1B).

Esta vinculación entre el transporte de electrones, el bombeo de protones y la síntesis de ATP, cuando fue propuesta por primera vez en la década de 1960, se denominó *hipótesis quimiosmótica* por la relación entre las reacciones que producen un enlace químico que sintetiza el ATP ("quimio") y el proceso de transporte de membrana ("osmótico", del griego *osmos*, "empujar"). En la actualidad, se conoce como **acoplamiento quimiosmótico**. Los mecanismos quimiosmóticos permiten que las células aprovechen la energía de las transferencias de electrones de una manera muy similar a la que puede aprovecharse la energía almacenada en una batería para realizar un trabajo útil (Fig. 14-2).

El acoplamiento quimiosmótico se desarrolló en primer lugar en las bacterias. Quizás por esa razón no sea sorprendente que las células eucariontes aerobias hayan adoptado íntegramente el mecanismo quimiosmótico, en un comienzo al englobar bacterias aerobias que formaron las mitocondrias, y más adelante –en los linajes que dieron lugar a las algas y los vegetales superiores– al englobar a las cianobacterias y formar los cloroplastos, como se describió en el capítulo 1 (véanse Figs. 1-19 y 1-21).

En este capítulo consideraremos la generación de energía en las mitocondrias y en los cloroplastos y se pondrá el énfasis en los principios comunes por los que se crean y utilizan los gradientes de protones en estos orgánulos y en las bacterias. Comenzaremos por describir la estructura y la función de las mitocondrias, y se analizarán los fenómenos que se producen en la membrana mitocondrial que crea el gradiente de protones y genera ATP. A continuación se describirá la fotosíntesis, como sucede en los cloroplastos de las células vegetales. Por último, se reseñarán los caminos evolutivos que hicieron predominar estos mecanismos de generación de energía. Al examinar las condiciones de vida de una variedad de organismos unicelulares –incluidos los que se podrían parecer a las células ancestra-

PREGUNTA 14-1

El dinitrofenol (DNP) es una molécula pequeña que torna las membranas permeables a los protones.
En la década de 1940 se administraron pequeñas cantidades de este compuesto altamente tóxico a pacientes para inducir una reducción del peso. El DNP resultó efectivo en este aspecto porque disminuyó particularmente las reservas de grasa. ¿Puede explicar cómo produce esa pérdida de peso corporal? Sin embargo, como efecto colateral indeseable, los pacientes tenían temperatura elevada y sudoración profusa durante el tratamiento. Elabore una explicación para estos síntomas.

les– se puede comenzar a apreciar la función que el acoplamiento quimiosmótico desempeñó en la aparición de eucariontes complejos y en el desarrollo de todas las formas de vida sobre la Tierra.

MITOCONDRIAS Y FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

Las **mitocondrias** se encuentran prácticamente en todas las células eucariontes –en las plantas, los animales y en la mayoría de los microorganismos eucariontes– y es en estos orgánulos donde se produce la mayor parte del ATP. Sin las mitocondrias, las células eucariontes actuales dependerían del mecanismo relativamente ineficiente de la glucólisis para toda su producción de ATP, y parece improbable que los organismos multicelulares complejos se hayan mantenido hasta nuestros días de esta manera. Cuando la glucosa se transforma en piruvato mediante la glucólisis se producen sólo dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa (menos del 10% de la energía libre total de la glucosa potencialmente disponible). Por el contrario, en las mitocondrias el metabolismo de los azúcares es completo y la energía liberada se aprovecha en forma tan eficiente que se generan unas 30 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa que se oxida.

Los defectos en la función mitocondrial pueden tener graves repercusiones para el organismo. Consideremos, por ejemplo, una enfermedad hereditaria denominada *epilepsia mioclónica asociada con fibras rojas rasgadas* (*ragged red fibers*) (MERRF). Esta enfermedad, causada por una mutación en uno de los genes mitocondriales del RNA de transferencia, se caracteriza por la disminución de la síntesis de las proteínas mitocondriales requeridas para el transporte de electrones y la producción de ATP. Como resultado, los pacientes se presentan con debilidad muscular o con trastornos cardíacos (por los efectos sobre el miocardio) y epilepsia o demencia (por los efectos en las células nerviosas). Los tejidos muscular y nervioso son los que más sufren cuando las mitocondrias son defectuosas porque necesitan particularmente grandes cantidades de ATP para funcionar en forma óptima.

Las mismas reacciones metabólicas que se producen en las mitocondrias tienen lugar en las bacterias aerobias, que carecen de estos orgánulos; en esos organismos la membrana plasmática es la que realiza el acoplamiento quimiosmótico. De hecho, la célula bacteriana también realiza muchas otras funciones; la mitocondria, por el contrario, se ha vuelto altamente especializada en la producción de energía.

La mitocondria tiene una membrana externa, una membrana interna y dos compartimientos internos

Las mitocondrias suelen ser similares en su tamaño y en su forma a las bacterias, aunque estas características pueden variar según el tipo celular. Contienen su propio DNA y RNA, y un sistema completo de transcripción y traducción, incluso ribosomas, que les permite sintetizar algunas de sus propias proteínas. La filmación de células vivas demostró que las mitocondrias son orgánulos con gran movilidad, que cambian constantemente de forma y posición. Están presentes en gran número –1.000 a 2.000 en una célula hepática, por ejemplo– y pueden formar largas cadenas móviles junto con los microtúbulos del citoesqueleto (como se describe en el capítulo 17). En otras células permanecen fijas en determinada localización impulsando el ATP directamente hacia un sitio de consumo muy elevado. En una célula muscular cardíaca, por ejemplo, las mitocondrias se encuentran cerca del aparato contráctil, mientras que en un espermatozoide están muy enrolladas alrededor del flagelo móvil (**Fig. 14-3**). El número de mitocondrias presentes en distintos tipos celulares es muy variable y puede modificarse según la energía que necesita cada célula. En una fibra musculoesquelética, por ejemplo, el número de mitocondrias se incrementa entre cinco y diez veces por su crecimiento y división cuando el músculo es estimulado a contraerse de manera repetida.

Cada mitocondria está delimitada por dos membranas muy especializadas –una en torno de la otra– que cumplen una función esencial en sus actividades. Las mem-

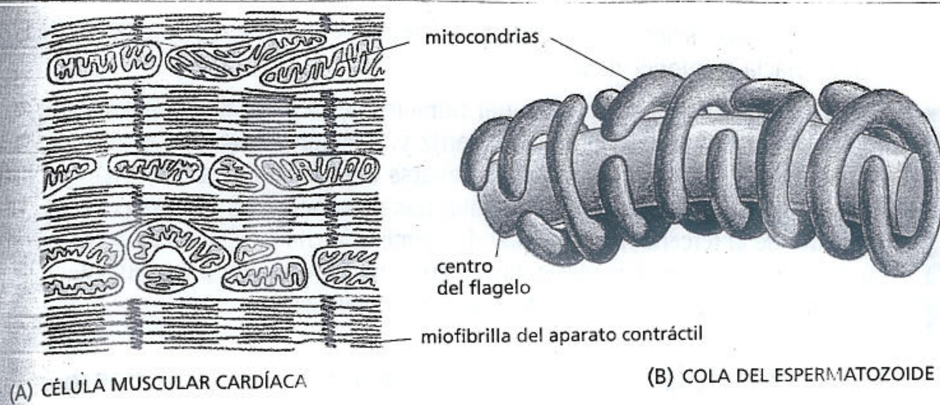


Figura 14-3. Las mitocondrias están situadas cerca de los sitios de utilización elevada del ATP. (A). En una célula del músculo cardíaco, las mitocondrias se encuentran cerca del aparato contráctil, al que la hidrólisis del ATP le proporciona la energía para la contracción. (B). En el espermatozoide, las mitocondrias se localizan en la cola, alrededor del axonema del flagelo móvil, que necesita ATP para su movimiento.

branas externa e interna de la mitocondria definen dos compartimientos: un espacio interno de gran tamaño denominado **matriz** y un *espacio intermembrana* mucho más estrecho (Fig. 14-4). Si se procesan y fraccionan con cuidado las mitocondrias purificadas en componentes separados por centrifugación diferencial (véase Lámina 4-4, pp. 164-165), puede determinarse la composición bioquímica de ambas membranas y la de los espacios que delimitan. Cada uno de los componentes presenta un conjunto exclusivo de proteínas.

La *membrana externa* contiene muchas moléculas de una proteína transportadora denominada porina, que, como se describió en el capítulo 11, forma anchos canales acuosos a través de la bicapa lipídica. Como resultado, la membrana mitocondrial externa es como un tamiz permeable a todas las moléculas de 5.000 daltons o menos, que incluye las proteínas pequeñas. Esto convierte al espacio intermembrana químicamente equivalente al citosol en lo que respecta a las moléculas pequeñas que contiene. Por el contrario, la *membrana interna*, como otras membranas de la célula, es impermeable al pasaje de los iones y de la mayoría de las moléculas pequeñas, salvo cuando una vía metabólica está provista de proteínas transportadoras de membrana. Por la tanto, la matriz mitocondrial sólo contiene las moléculas que pueden ser transportadas en forma selectiva a través de la membrana mitocondrial interna, y su contenido es muy especializado.

La membrana mitocondrial interna es el sitio donde se produce el transporte de electrones y el bombeo de protones, y en ella se encuentra la enzima ATP sintasa. La mayoría de las proteínas localizadas en la membrana mitocondrial interna son componentes de las cadenas de transporte de electrones necesarias para la fosforilación oxidativa. Esta membrana tiene una composición lipídica característica, y también da cabida a una variedad extensa de proteínas de transporte que

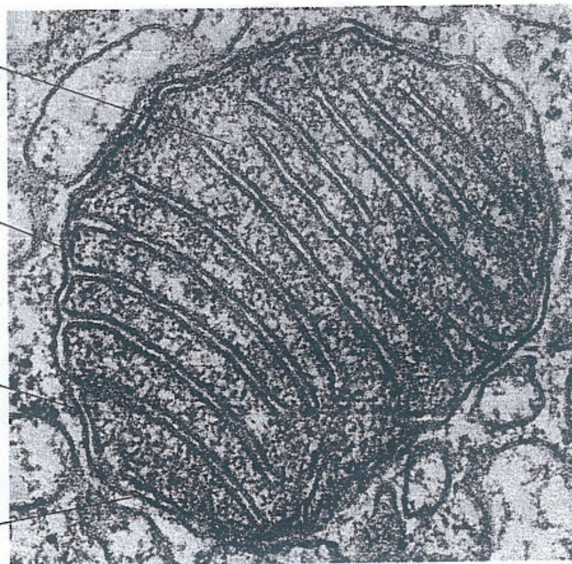


Figura 14-4. Una mitocondria está organizada en cuatro compartimientos separados. Dos de estos compartimientos son membranas, y los otros dos, espacios internos. Cada uno de los compartimientos contiene una dotación particular de proteínas que le permite llevar a cabo diferentes funciones. En las mitocondrias hepáticas, se estima que el 67% de las proteínas mitocondriales totales están localizadas en la matriz, el 21% en la membrana interna, el 6% en la membrana externa y el 6% en el espacio intermembrana (Microfotografía electrónica cortesía de Daniel S. Friend).

permiten el paso selectivo de moléculas pequeñas, como el piruvato y los ácidos grasos, hacia el interior de la matriz.

La membrana interna suele presentar numerosos pliegues, denominados *crestas*, que se proyectan en dirección de la matriz y aumentan en gran medida la superficie (véase Fig. 14-4) donde puede llevarse a cabo la síntesis del ATP; en una célula hepática, por ejemplo, las membranas mitocondriales internas constituyen alrededor de la tercera parte del total de membranas de la célula. Por otra parte, el número de crestas es tres veces mayor en la mitocondria de una célula muscular cardíaca que en la mitocondria de una célula hepática.

PREGUNTA 14-2

Las micrografías electrónicas revelan que las mitocondrias del músculo cardíaco tienen una mayor densidad de crestas que las mitocondrias de las células cutáneas. Sugiera una explicación para esta observación.

El ciclo del ácido cítrico genera electrones de alta energía

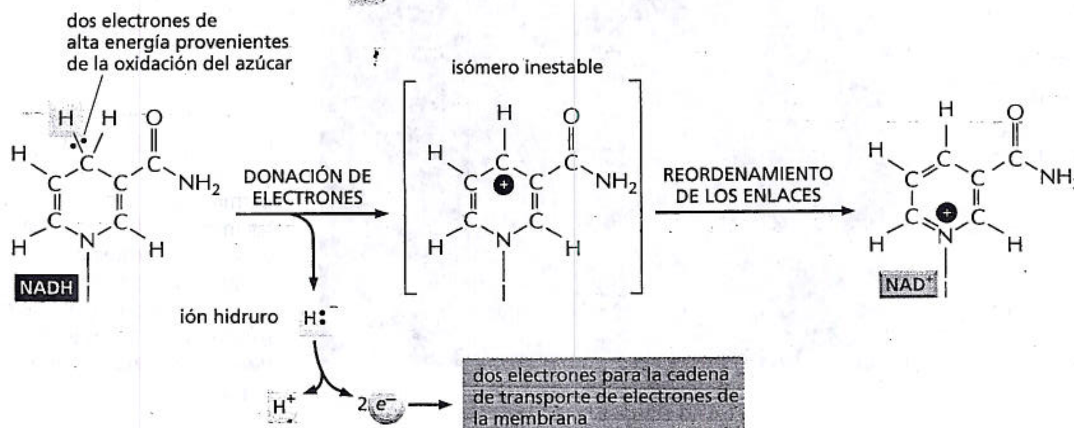
Las mitocondrias pueden usar como combustible el piruvato o los ácidos grasos. El piruvato proviene sobre todo de la glucosa y otros azúcares y los ácidos grasos derivan de las grasas. Ambos tipos de moléculas combustibles son transportadas a través de la membrana mitocondrial interna y luego transformadas en un intermediario metabólico esencial, la acetil CoA, por la acción de enzimas localizadas en la matriz mitocondrial (véase Fig. 13-10). Los grupos acetilo de la acetil CoA son posteriormente oxidados en la matriz por la vía del ácido cítrico (véase Lámina 13-2, pp. 442-443). El ciclo convierte los átomos de carbono de la acetil CoA en CO_2, que se liberan de la célula como un producto de desecho. Además, el ciclo genera electrones de alta energía, que se unen a las moléculas transportadoras activadas NADH y $FADH_2$ (Fig. 14-5).

Aunque el ciclo del ácido cítrico es considerado como una parte del metabolismo aerobio, no utiliza en sí mismo oxígeno molecular (O_2). El oxígeno se consume directamente sólo en las reacciones catabólicas finales que tienen lugar en la membrana mitocondrial interna, como se verá a continuación.

Un proceso quimiosmótico convierte la energía proveniente de las moléculas transportadoras activadas en ATP

Casi toda la energía disponible proveniente de la degradación de los hidratos de carbono, las grasas y otros nutrientes consumidos en las primeras etapas de su oxidación se almacena inicialmente en forma de moléculas transportadoras activadas generadas durante la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico: NADH y $FADH_2$. Estas moléculas transportadoras donan sus electrones de alta energía a la cadena transportadora de electrones en la membrana mitocondrial y, por lo tanto, se oxidan a NAD^+ y FAD. Los electrones pasan rápidamente a lo largo de la cadena al oxígeno molecular (O_2) y forman agua (H_2O). La energía que se libera durante el paso de los electrones a lo largo de la cadena transportadora es aprovechada para bombear protones a través de la membrana mitocondrial interna (Fig. 14-6) y este gradiente de protones resultante a su vez impulsa la síntesis de ATP. En la figura 14-7 se muestra la secuencia completa de reacciones. En consecuencia, la mem-

Figura 14-5. El NADH cede sus electrones a la cadena de transporte de electrones. En este esquema, los electrones de alta energía están representados por dos puntos rojos sobre el átomo de hidrógeno de color amarillo. El NADH cede un ión hidruro (un átomo de hidrógeno con un electrón adicional) que se transforma en un protón y dos electrones de alta energía. Sólo se muestra el anillo que transporta los electrones en un enlace de alta energía; para conocer la estructura completa y la transformación en sentido inverso de NAD^+ en NADH véase la estructura del NADPH, estrechamente relacionada con aquella, en la figura 3-34. Los electrones también son transportados de una manera similar por el $FADH_2$, cuya estructura se ilustra en la figura 13-12B.



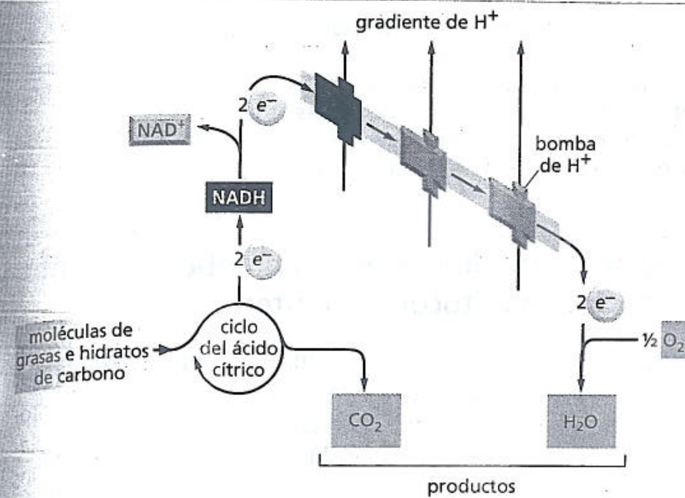


Figura 14-6. Bombeo de protones a través de la membrana mitocondrial interna. Se muestra sólo la primera etapa del acoplamiento quimiosmótico (véase Fig. 14-1). Se indican con *flechas rojas* la dirección del flujo de electrones.

brana mitocondrial interna actúa como dispositivo que convierte la energía contenida en los electrones de alta energía del NADH en enlaces de fosfato de alta energía de ATP (Fig. 14-8). Este mecanismo quimiosmótico de síntesis de ATP se denomina **fosforilación oxidativa**, porque implica tanto el consumo de O_2 como el agregado de un grupo fosfato al ADP lo que forma ATP.

Aunque cuando transcurrió mucho tiempo antes de que el mecanismo fuera detectado, la gran mayoría de los organismos vivos utilizan el acoplamiento quimiosmótico en la generación de ATP. La fuente de electrones que impulsa el bombeo de protones es muy diferente entre los distintos organismos y procesos. En la respiración aerobia en las mitocondrias y en las bacterias aerobias los electrones provienen, en última instancia, de la oxidación de la glucosa o de los ácidos grasos. En la fotosíntesis, los electrones requeridos provienen de la acción de la luz solar sobre el pigmento verde *clorofila*. Entre tanto, muchas bacterias utilizan sustancias inorgánicas como el hidrógeno, el hierro y el azufre como la fuente de electrones de alta energía que necesitan para generar ATP.

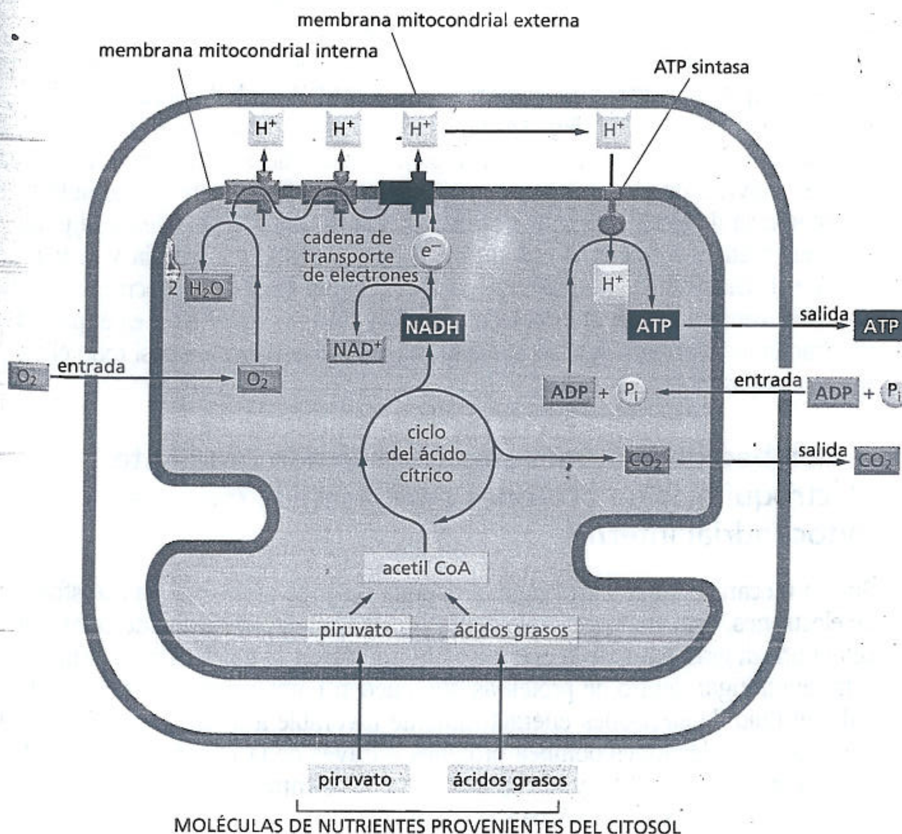


Figura 14-7. Los electrones de alta energía, generados durante el ciclo del ácido cítrico, favorecen la producción de ATP. El piruvato y los ácidos grasos ingresan en la mitocondria (abajo), se convierten en acetil CoA y después se metabolizan en el ciclo del ácido cítrico, que reduce NAD+ a NADH (y FAD a $FADH_2$, que no se muestra en la figura). En el proceso de fosforilación oxidativa, los electrones de alta energía provenientes del NADH (y del $FADH_2$) pasan después a lo largo de la cadena de transporte de electrones en la membrana interna hasta el oxígeno (O_2). Este transporte de electrones genera un gradiente de protones a través de la membrana interna, que se utiliza en la producción de ATP por la ATP sintasa. En este diagrama se han omitido las proporciones exactas entre "reactantes" y "productos". Por ejemplo, se verá enseguida que se necesitan cuatro electrones provenientes de cuatro moléculas de NADH para convertir el O_2 en dos moléculas de H_2O.

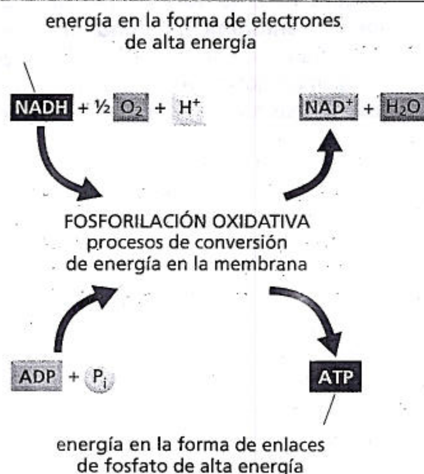


Figura 14-8. La mitocondria cataliza una conversión importante de energía. En la fosforilación oxidativa se aprovecha la energía liberada por la oxidación de NADH a NAD^+ –mediante procesos de transformación de la energía en la membrana– para las necesidades energéticas de la fosforilación del ADP en ATP. La ecuación neta de este proceso en el que pasan dos electrones del NADH al oxígeno es $NADH + {}^1/_2\ O_2 + H^+ \rightarrow NAD^+ + H_2O$.

La cadena de transporte de electrones bombea protones a través de la membrana mitocondrial interna

La cadena de transporte de electrones –también conocida como *cadena respiratoria*– que da lugar a la fosforilación oxidativa está presente en muchas copias idénticas en la membrana mitocondrial interna. Cada cadena contiene más de 40 proteínas, las cuales la mayoría se localizan en la bicapa lipídica y funcionan solamente en una membrana indemne, lo que hace difícil su estudio. Sin embargo, los componentes de la cadena de transporte de electrones, al igual que otras proteínas de membrana, pueden ser solubilizados con detergentes no iónicos (véase Fig. 11-27), purificados y luego reconstituidos en forma operativa en pequeñas vesículas de membrana. Estos estudios revelan que la mayoría de las proteínas que participan en la cadena mitocondrial de transporte de electrones está agrupada en tres grandes *complejos enzimáticos respiratorios*, cada uno contiene múltiples proteínas individuales. Cada complejo dispone de proteínas transmembrana que sostienen con firmeza todo el complejo proteico en la membrana mitocondrial interna.

Los tres complejos enzimáticos respiratorios, en el orden en que reciben electrones son: 1) el de la *NADH deshidrogenasa*; 2) el del *citocromo b-c1*, y 3) el de la *citocromo oxidasa*. Cada uno contiene iones metálicos y otros grupos químicos que forman una vía para el paso de electrones a través del complejo. Los complejos respiratorios son los sitios en los que se bombean protones, y puede considerarse a cada uno como una máquina proteica que bombea protones a través de la membrana a medida que se transfieren los electrones.

El transporte de electrones comienza cuando un ión hidruro (H–) es cedido por el NADH y se convierte en un protón y dos electrones de alta energía H– n H+ + 2*e*–, según se ilustra en la figura 14-5. Esta reacción es catalizada por el primero de los complejos enzimáticos respiratorios, la NADH deshidrogenasa, que acepta los electrones del NADH (**Fig. 14-9**). Los electrones pasan después a lo largo de la cadena a cada uno de los otros complejos enzimáticos utilizando los transportadores móviles de electrones que transfieren electrones entre los complejos. La transferencia de electrones a lo largo de la cadena es favorable desde el punto de vista energético: comienzan con un nivel muy elevado de energía y la van perdiendo en cada etapa del proceso, para entrar por fin en la citocromo oxidasa, donde se combinan con una molécula de O_2 y forman agua. Éste es el paso de la respiración celular en el que se necesita oxígeno y se consume casi todo el oxígeno que respiramos.

El bombeo de protones crea un marcado gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna

Sin un mecanismo que aproveche la energía liberada mediante las transferencias de electrones, esta energía simplemente podría liberarse en forma de calor. Pero la célula utiliza gran parte de la energía de la transferencia de electrones al hacer que ésta tenga lugar dentro de proteínas que pueden bombear protones. Como resultado, el flujo de electrones energéticamente favorable a lo largo de la cadena de transporte de electrones bombea protones a través de la membrana hacia afuera de la matriz mitocondrial y al espacio que queda entre las membranas mitocondriales interna y externa (véase Fig. 14-9).

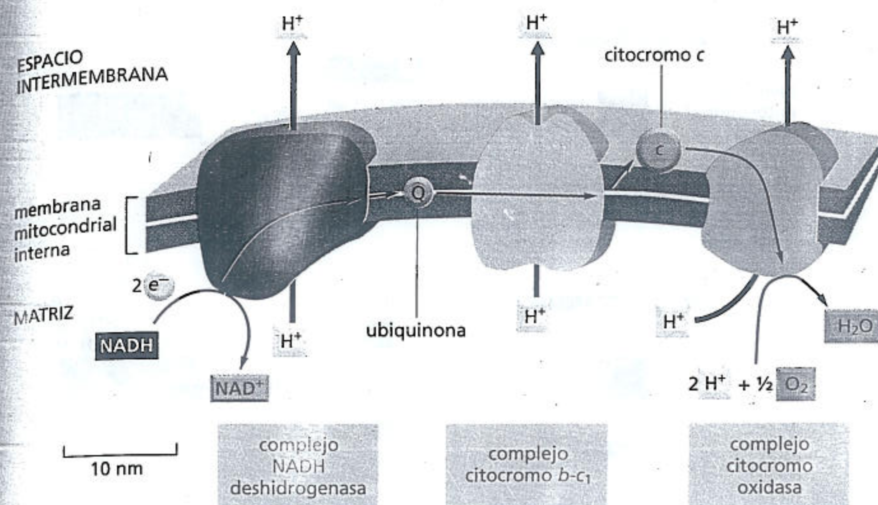


Figura 14-9. Los electrones se transfieren por medio de tres complejos de enzimas respiratorias en la membrana mitocondrial interna. Se indican el tamaño relativo y la forma de cada uno de los complejos. Durante la transferencia de electrones del NADH al oxígeno (*líneas rojas*), los complejos de enzimas respiratorias a través de la membrana bombean los protones procedentes del agua desde la matriz hacia el interior del espacio intermembrana por medio de cada uno de los complejos de enzimas respiratorias (Película 14.2). La ubiquinona (Q) y el citocromo c (c) actúan como transportadores móviles que llevan electrones desde un complejo hasta el siguiente.

Más adelante, en este capítulo se hace una revisión de los mecanismos moleculares que acoplan el transporte de electrones al movimiento de protones. Por ahora nos centramos en las consecuencias de esta ingeniosa maniobra biológica. En primer lugar, el bombeo activo de protones genera un gradiente de concentración de protones (es decir, un gradiente de pH) a través de la membrana mitocondrial interna, en el que el pH es casi 0,5 unidades más elevado dentro de la matriz (pH alrededor de 7,5) que en el espacio intermembrana, donde tiene un valor cercano a 7 (igual pH que en el citosol). En segundo lugar, el bombeo de protones genera un potencial de membrana a través de la membrana mitocondrial interna, en la que el interior (del lado de la matriz) es negativo y el exterior es positivo, como resultado de un flujo neto de H^+ hacia afuera.

Como se comentó en el capítulo 12, la fuerza que impulsa el flujo pasivo de iones a través de una membrana es proporcional al gradiente electroquímico del ión. Esto, a su vez, depende del voltaje a través de la membrana, que se mide como potencial de membrana y del gradiente de concentración del ión (véase Fig. 12-7). Como los protones tienen carga positiva, se desplazan con mayor facilidad a través de una membrana si ésta tiene un exceso de cargas eléctricas negativas del otro lado. En el caso de la membrana mitocondrial interna, el gradiente de pH y el potencial de membrana actúan en conjunto generando un marcado gradiente electroquímico de protones que lo hace muy favorable desde el punto de vista energético para que los H^+ refluyan dentro de la matriz mitocondrial. En todas las membranas productoras de energía que se describen en este capítulo, el potencial de membrana se agrega a la fuerza que impulsa a los H^+ a retornar a la matriz mitocondrial a través de la membrana, que se denomina *fuerza protón-motriz*; por lo tanto, este potencial de membrana incrementa la cantidad de energía almacenada en el gradiente de protones (Fig. 14-10).

PREGUNTA 14-3

Cuando se agrega dinitrofenol (DNP) a las mitocondrias, la membrana interna se torna permeable a los protones (H^+). Por el contrario, cuando se añade el fármaco nigericina a las mitocondrias, la membrana interna se hace permeable al K^+. (A) ¿Cómo se modificará el gradiente electroquímico de protones en respuesta al DNP? (B) ¿Cómo se modificará cuando se agrega nigericina?

El gradiente electroquímico de protones impulsa la síntesis de ATP

Como se explicó antes, el gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna impulsa la síntesis de ATP. El mecanismo que hace esto posible es una gran enzima denominada **ATP sintasa**, que también está incluida en la membrana mitocondrial interna. Esta enzima genera una vía hidrófila a través de la membrana mitocondrial interna que le permite que los protones fluyan a favor de su gradiente electroquímico (Fig. 14-11). Como esos iones encuentran su camino mediante la enzima, se impulsa la reacción desfavorable desde el punto de vista energético entre el ADP y el P_i que forman el ATP (véase Fig. 2-24). La ATP sintasa tiene un origen antiguo; la misma enzima se encuentra en las mitocondrias de las células animales, en los cloroplastos de las plantas y las algas, y en las membranas plasmáticas de las bacterias.

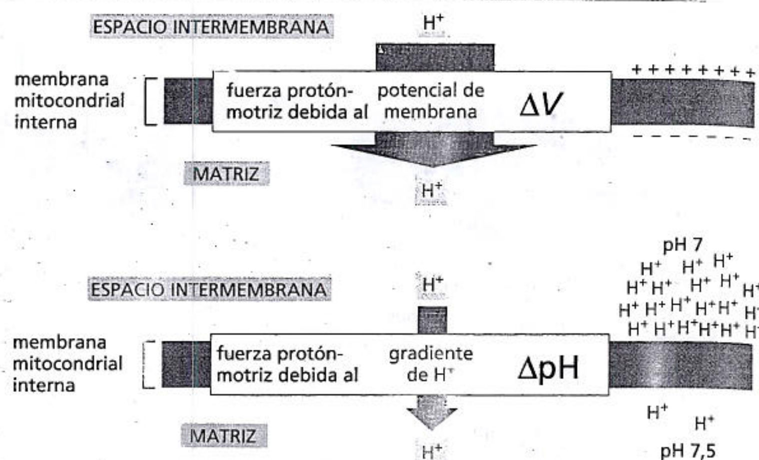


Figura 14-10. El gradiente electroquímico total de H+ a través de la membrana mitocondrial interna consiste en una gran fuerza que responde al potencial de membrana (ΔV) y una fuerza más pequeña que proviene del gradiente de concentración de H+ (ΔpH). Ambas fuerzas se combinan en la *fuerza protón-motriz* que conduce a los H+ dentro del espacio de la matriz. La relación entre estas fuerzas está expresada por la ecuación de Nernst (véase Fig. 12-30).

La ATP sintasa es una proteína de gran tamaño, formada por varias subunidades (Fig. 14-12). Una porción enzimática grande en forma de cabezuela, se proyecta hacia la cara de la matriz de la membrana mitocondrial interna y se adhiere por medio de una subunidad más delgada con forma de "tallo", a un transportador de protones transmembrana. Como los protones pasan a través de un estrecho canal del transportador transmembrana, su desplazamiento hace que el tallo gire rápidamente dentro de la cabeza y la induzca a formar ATP (véase Fig. 14-12A). La sintasa actúa esencialmente como un motor molecular que genera energía, ya que convierte la energía del flujo protónico a favor de un gradiente en la energía mecánica de dos grupos de proteínas que chocan entre sí: las proteínas del tallo giratorio impelen las proteínas estacionarias de la cabeza. El movimiento del tallo cambia la conformación de las subunidades dentro de la cabeza. Esta deformación mecánica se convierte en energía química de enlace a medida que las subunidades producen ATP. Este maravilloso mecanismo es capaz de generar más de 100 moléculas de ATP por segundo, y es necesario que pasen aproximadamente tres protones a través de la sintasa para constituir cada molécula de ATP.

La ATP sintasa es un mecanismo con un acoplamiento reversible. Puede aprovechar tanto el flujo de protones a favor de su gradiente electroquímico y generar ATP (su función normal en las mitocondrias y en la membrana plasmática de las bacterias aerobias), como también emplear la energía de la hidrólisis del ATP para bombear los protones a través de la membrana (Fig. 14-13). En este último caso, la ATP sintasa funciona como en las bombas de H+ que se describieron en el capítulo 12. El hecho de que la ATP sintasa genere o consuma ATP depende de la magnitud del gradiente electroquímico de protones a través de la membrana en la que se encuentra. En muchas bacterias que crecen en forma aerobia o anaerobia, la dirección en la que trabaja la ATP sintasa se invierte habitualmente cuando el O_2 desaparece del medio. En ese momento, la ATP sintasa utiliza parte del ATP generado dentro de la célula por glucólisis para bombear protones hacia el exterior celular, y se crea el gradiente de protones que la célula bacteriana necesi-

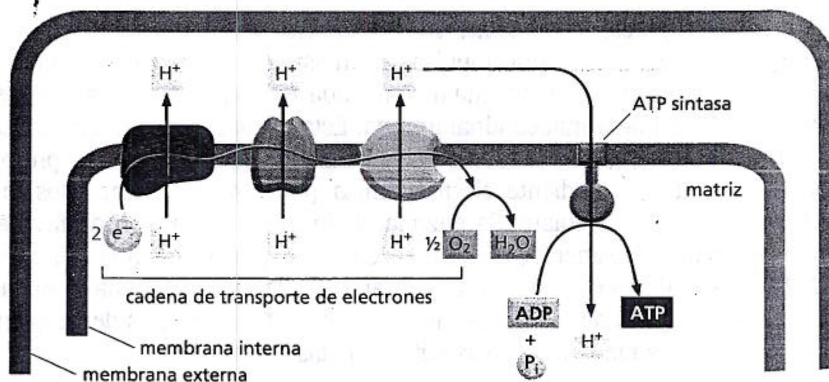


Figura 14-11. El gradiente electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna permite que la ATP sintasa genere ATP. Cuando un electrón de alta energía se desplaza a lo largo de la cadena de transporte de electrones, gran parte de la energía liberada se utiliza en el bombeo de H+ fuera del espacio de la matriz. El gradiente electroquímico de protones resultante a través de la membrana interna impulsa a los H+ nuevamente hacia el interior de la matriz, por medio de la ATP sintasa, un complejo proteico transmembrana que utiliza la energía del flujo de protones en la síntesis de ATP a partir de ADP y P_i en la matriz.

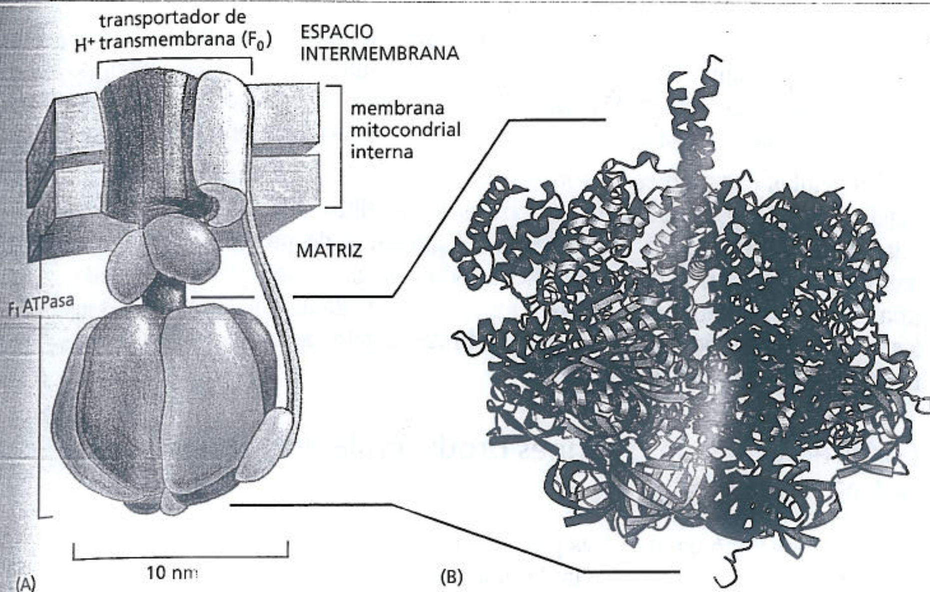


Figura 14-12. La ATP sintasa tiene la forma de una piruleta. (A). La enzima está constituida por una porción cefálica, denominada F_1 ATPasa, y un transportador de H+ transmembrana, llamado F_0. Como se indica, las porciones F_1 y F_0 están compuestas por subunidades múltiples. La porción F_0, que consiste de un rotor y un tallo (*rojo*), gira en la membrana impulsada por el gradiente de protones. El estator (*verde claro*) está formado por subunidades transmembrana, unidas a otras subunidades dando lugar a un brazo alargado. Este brazo fija el estator a un anillo de subunidades que componen la cabeza estacionaria de la F_1 ATPasa. (B). Estructura tridimensional de la F_1 ATPasa, como se determinó por cristalografía de rayos X. El nombre de esta parte de la ATP sintasa proviene de su capacidad de llevar a cabo la reacción inversa a la síntesis del ATP, es decir, la hidrólisis del ATP en ADP y P_i, cuando se la separa de su porción transmembrana. (B, cortesía de John Walker, de J.P. Abrahams y col., *Nature* 370:621-628, 1994. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd.).

ta para importar sus nutrientes esenciales por transporte acoplado, como se verá a continuación.

El transporte acoplado a través de la membrana mitocondrial interna es impulsado por el gradiente electroquímico de protones

La síntesis de ATP no es el único proceso dirigido por el gradiente electroquímico de protones. En las mitocondrias, muchas moléculas cargadas, como piruvato, ADP y P_i, son bombeadas dentro de la matriz desde el citosol, mientras que otras, como el ATP, deben ser desplazadas en la dirección opuesta. Las proteínas transportadoras que se unen a estas moléculas pueden acoplar su transporte con el flujo energéticamente favorable de H+ hacia el interior de la matriz mitocondrial. Por ejemplo, el piruvato y el fosfato inorgánico (P_i) son cotransportados hacia el interior de la matriz al mismo tiempo que lo hace el H+, cuando éste se desplaza a favor de su gradiente electroquímico.

Otros transportadores aprovechan que el gradiente electroquímico de protones genera un potencial de membrana, dado que el lado de la matriz de la membrana mitocondrial interna tiene una carga más negativa que el espacio intermembrana en el otro lado. Una proteína transportadora antiportadora aprovecha este gradiente de voltaje para expulsar ATP de la matriz mitocondrial e importar ADP a ella. Como una molécula de ATP tiene una carga negativa más que el ADP, el

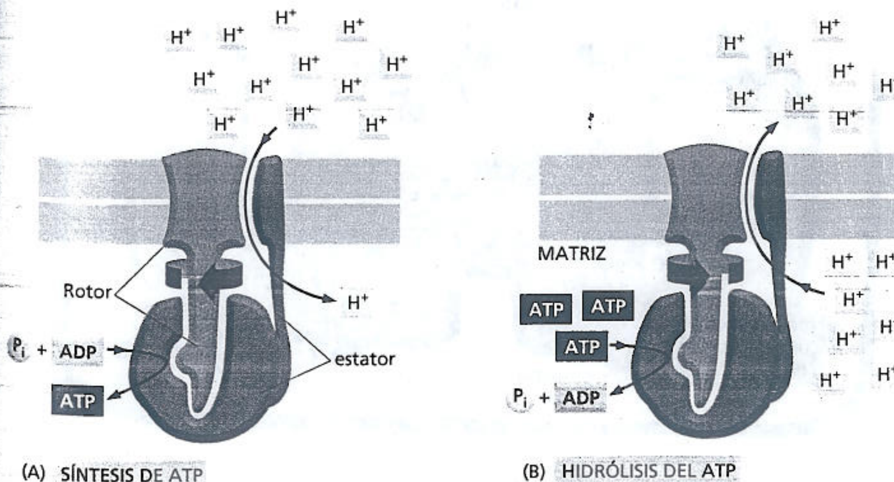


Figura 14-13. La ATP sintasa es un mecanismo de acoplamiento reversible, que puede transformar la energía del gradiente electroquímico de protones en energía de enlace químico o a la inversa. La ATP sintasa no sólo puede sintetizar ATP aprovechando el gradiente de H+ (A), sino también bombear protones en contra de su gradiente electroquímico mediante la hidrólisis del ATP (B). La dirección de la reacción, en un momento dado, depende de la variación neta de energía libre (ΔG, como se comentó en el capítulo 3) de los procesos acoplados de translocación de H+ a través de la membrana y síntesis del ATP a partir del ADP y P_i. Por ejemplo, si el gradiente electroquímico de protones disminuye por debajo de cierto nivel, el ΔG del transporte de H+ dentro de la matriz ya no será lo suficientemente elevado como para impulsar la producción de ATP. Por el contrario, el ATP será hidrolizado por la ATP sintasa para reconstituir el gradiente de protones. La acción de la ATP sintasa se muestra en las Películas 14.3 y 14.4.

intercambio de estos nucleótidos da como resultado el desplazamiento en total de una carga negativa hacia el exterior de la mitocondria. Este intercambio de nucleótidos –que envía ATP hacia el citosol– está, en consecuencia, impulsado por la diferencia de carga a través de la membrana mitocondrial interna (Fig. 14-14).

En las células eucariontes, por lo tanto, el gradiente de protones impulsa la formación de ATP y el transporte de ciertos metabolitos a través de la membrana mitocondrial interna. En las bacterias, el gradiente de protones a través de la membrana plasmática bacteriana tiene todas estas funciones, pero, además, es una fuente importante de energía directamente utilizable: en las bacterias móviles, el gradiente produce la rotación rápida del flagelo bacteriano, lo cual determina su desplazamiento (**Película 14.5**).

PREGUNTA 14-4

Las destacables propiedades que le permiten a la ATP sintasa catalizar la reacción en cualquier dirección posibilitan la interconversión de la energía almacenada en el gradiente de H+ y la energía almacenada en el ATP. (A) Si la ATP sintasa que produce ATP puede ser comparada con una turbina hidráulica que genera electricidad, ¿cuál sería la analogía apropiada cuando trabaja en la dirección opuesta? (B) ¿En qué condiciones la ATP sintasa dejaría de funcionar tanto en un sentido de la reacción como en el otro? (C) ¿Qué determina la dirección en la cual actúa la ATP sintasa?

Los gradientes de protones producen la mayor parte del ATP de las células

Como se mencionó, la glucólisis produce por sí sola la ganancia neta de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa, mientras que la oxidación completa de la glucosa –que comprende la glucólisis y la fosforilación oxidativa– genera cerca de 30 moléculas de ATP. En la glucólisis, es evidente de dónde provienen las moléculas de ATP: dos moléculas de ATP se consumen temprano en el proceso y cuatro moléculas se producen hacia el final (véase Fig. 13-3). Pero en el caso de la fosforilación oxidativa, el cálculo es menos sencillo porque los ATP no se forman directamente como sucede en la glucólisis. En cambio, se producen a partir de la energía transportada por el NADH y el $FADH_2$, que se generan durante la glucólisis y el ciclo del ácido cítrico. Estas moléculas transportadoras activadas donan sus electrones a la cadena transportadora de electrones que yace en la membrana mitocondrial interna. El desplazamiento de estos electrones a lo largo de la cadena respiratoria incrementa la formación del gradiente de protones que, a su vez, estimula la producción de ATP.

La cantidad de ATP final que cada molécula transportadora produce depende de varios factores e incluye el sitio de la cadena respiratoria en el que ingresan sus electrones. Las moléculas de NADH que se producen durante el ciclo del ácido cítrico en el interior de la mitocondria ceden sus electrones a la NADH deshidrogenasa, el primer complejo de enzimas respiratorias en la cadena. Estos electro-

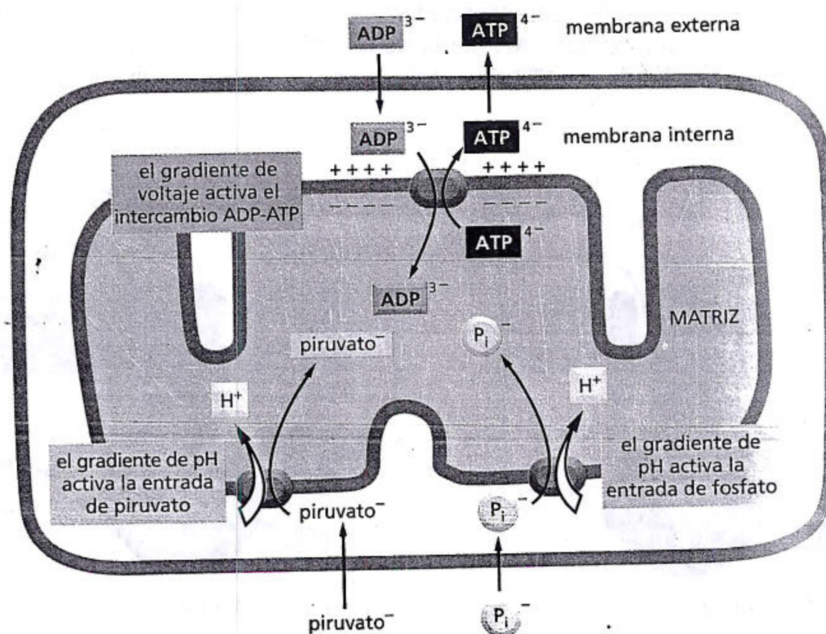


Figura 14-14. El gradiente electroquímico de protones a través de la membrana mitocondrial interna también se utiliza para iniciar algunos procesos de transporte acoplado. El piruvato, el fosfato inorgánico (P_i), y el ADP se desplazan en el interior de la matriz junto con iones de H+ cuando ellos se desplazan a favor de su gradiente electroquímico. El ADP es bombeado hacia adentro y el ATP hacia afuera por el proceso antiportador (intercambio ADP-ATP), que depende de un gradiente de voltaje a través de la membrana (potencial de membrana). La carga de cada una de las moléculas transportadas se indica en comparación con el potencial de membrana que, como se muestra en la figura, es negativo en el interior. La membrana externa es permeable a todos estos compuestos. En el capítulo 12 se describe el transporte activo de las moléculas a través de las membranas por proteínas transportadoras y la generación del potencial de membrana.

CUADRO 14-1 PRODUCTOS RESULTANTES DE LA OXIDACIÓN DE LA GLUCOSA

PROCESO	PRODUCTO DIRECTO	CANTIDAD TOTAL DE ATP POR MOLÉCULA DE GLUCOSA
Glucólisis	2 NADH (citosólico)	3*
	2 ATP	2
Oxidación del piruvato a acetil CoA (dos por glucosa)	2 NADH (matriz mitocondrial)	5
Oxidación completa de acetil CoA (dos por glucosa)	6 NADH (matriz mitocondrial)	15
	2 $FADH_2$	3
	2 GTP	2
	TOTAL	30

*El NADH producido en el citosol rinde menos moléculas de ATP que el NADH producido en la matriz mitocondrial porque la membrana mitocondrial interna es impermeable al NADH. Por lo tanto, el transporte de NADH a la matriz mitocondrial, donde encuentra a la NADH hidrogenasa, requiere energía.

nes pasan después de un complejo enzimático al siguiente, lo que estimula el bombeo de protones a tavés de la membrana mitocondrial interna en cada paso a lo largo de su trayecto. Estas moléculas de NADH proporcionan energía para la formación neta de cerca de 2,5 moléculas de ATP (véase pregunta 14-5).

Por otra parte, el $FADH_2$ generado durante el ciclo del ácido cítrico produce una cantidad neta de sólo 1,5 moléculas de ATP. Esto se debe a que la molécula de $FADH_2$ evita el complejo NADH deshidrogenasa y pasa sus electrones al transportador móvil insertado en la membrana (véase Fig. 14-9). Estos electrones ingresan después en la cadena respiratoria y, en consecuencia, favorecen el bombeo de menos protones y generan menos ATP. El cuadro 14-1 proporciona el cálculo completo del ATP producido por la oxidación de cada molécula de glucosa.

La oxidación de los ácidos grasos también produce grandes cantidades de ATP por la vía de la fosforilación oxidativa (véanse Figs. 13-9 y 13-10). Por lo tanto, la mayor parte del ATP producido en la célula animal se forma por mecanismos quimiosmóticos en la membrana mitocondrial.

PREGUNTA 14-5

Calcule el número de moléculas de ATP producidas por un par de electrones transferidos desde el NADH al oxígeno, si (I) son bombeados cinco protones a través de la membrana mitocondrial interna por cada electrón que pasa de uno a otro de los tres complejos enzimáticos respiratorios, (II) deben pasar tres protones a través de la ATP sintasa por cada molécula de ATP que se forma a partir del ADP y de fósforo inorgánico dentro de la mitocondria, y (III) un protón es utilizado para generar el gradiente de voltaje que se necesita para transportar esta molécula de ATP fuera de la mitocondria hacia el citosol donde es utilizada.

La conversión rápida de ADP en ATP en las mitocondrias mantiene una elevada relación ATP/ADP en las células

Como consecuencia del proceso de cotransporte descrito antes, las moléculas de ADP producidas por la hidrólisis del ATP en el citosol ingresan rápidamente en la mitocondria donde son recargadas, mientras que las moléculas de ATP formadas en la matriz mitocondrial por fosforilación oxidativa son rápidamente bombeadas dentro del citosol, donde son necesarias. Una pequeña cantidad de este ATP se utiliza dentro de la mitocondria en la replicación de su DNA, la síntesis proteica y otras reacciones que consumen energía. En definitiva, una molécula de ATP sale de las mitocondrias y vuelve a entrar (como ADP) donde es recargada más de una vez por minuto y lo que mantiene la concentración de ATP en la célula unas 10 veces más alta que la del ADP.

Como se señaló en el capítulo 3, las enzimas biosintéticas a menudo impulsan reacciones desfavorables desde el punto de vista energético mediante el acoplamiento de éstas a la hidrólisis, energéticamente favorable, del ATP (véase Fig. 3-33A). La dotación de ATP se emplea en los procesos celulares de la misma manera que una batería puede ser usada para accionar un motor eléctrico: si la actividad de las mitocondrias se detuviera, los niveles de ATP descenderían y la batería de la célula dejaría de funcionar; por último, las reacciones energéticamente desfavorables dejarían de producirse y la célula moriría. Éste es el mecanismo por el cual el cianuro, que bloquea el transporte de electrones en la membrana mitocondrial interna, causa la muerte.

MECANISMOS MOLECULARES DEL TRANSPORTE DE ELECTRONES Y BOMBEO DE PROTONES

Una vez que se consideró en términos generales cómo una mitocondria acopla el transporte de electrones a la generación de ATP, es necesario examinar con mayor detalle los mecanismos moleculares subyacentes a los procesos de transformación de energía en la membrana. Con esto, cumpliremos también un propósito más amplio. Como se destacó al comienzo de este capítulo, las mitocondrias, los cloroplastos y las bacterias utilizan mecanismos muy similares de transformación de energía, y los principios básicos que analizaremos a continuación son los fundamentos de la función de casi todos los seres vivos.

Durante muchos años, los bioquímicos no pudieron comprender por qué razón las cadenas de transporte de electrones se localizan en las membranas. El proceso de acoplamiento quimiosmótico supone una interacción entre fuerzas químicas y eléctricas que no resulta fácil de descifrar a nivel molecular. El rompecabezas fue resuelto tan pronto como se propuso, en los comienzos de la década de 1960, que los gradientes de protones transmembrana desempeñan una función fundamental en la producción de energía. No obstante, la idea era tan novedosa que no tuvo amplia aceptación hasta muchos años después, cuando se reunieron datos adicionales provenientes de experimentos diseñados de manera rigurosa para comprobar la hipótesis quimiosmótica (véase Biología experimental, pp. 468-469).

Aunque los investigadores aún intentan dilucidar muchos de los detalles del acoplamiento quimiosmótico, hoy en día los principios fundamentales se conocen con claridad. En esta parte del capítulo consideraremos algunos de los principios en los que se basa el proceso de transporte de electrones que explican cómo se puede generar un gradiente de protones.

Los protones se desplazan con facilidad mediante la transferencia de electrones

Aunque los protones se parecen a otros iones positivos como el Na^+ y el K^+ en lo que respecta a sus movimientos a través de las membranas, tienen algunos aspectos singulares. Los átomos de hidrógeno son, con un margen considerable, el tipo de átomos más abundantes de los organismos vivos, no sólo en todas las moléculas biológicas que contienen carbono, sino también en las moléculas de agua que las rodean. Los protones en el agua son sumamente móviles, oscilan a través de las redes de puentes de hidrógeno de las moléculas de agua y se disocian con rapidez de una molécula de agua para asociarse con la molécula vecina. Por lo tanto, el agua que se encuentra en todas las regiones de las células actúa como un reservorio listo para donar y aceptar protones.

Cada vez que una molécula se reduce al incorporar un electrón (e^-) éste transporta consigo una carga negativa. En muchos casos, esta carga es rápidamente neutralizada por la adición de un protón (H^+) del agua, por lo tanto el efecto neto de la reducción es la transferencia de un átomo completo de hidrógeno, $H^+ + e^-$ (Fig. 14-15). De la misma manera, cuando una molécula es oxidada, el átomo de hidrógeno puede ser rápidamente disociado en sus constituyentes electrón y protón, y ello permite que el electrón sea transferido individualmente a una molécula que acepte electrones, mientras que los protones se incorporan al agua. Por consiguiente, en una membrana en la que los electrones están desplazándose a lo largo de una cadena de transporte de electrones resulta, en principio, relativamente sencillo bombear protones desde un lado al otro de la membrana. Lo único que se necesita es que el transportador de electrones esté dispuesto en la membrana de forma que cuando acepte un electrón tome el protón de uno de los lados de la membrana, mientras que, al transferir el electrón a la siguiente molécula transportadora de la cadena, libere al protón en el otro lado de la membrana (Fig. 14-16).

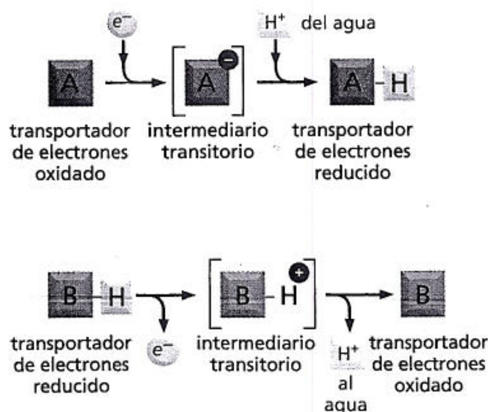


Figura 14-15. Los protones en el agua tienen gran movilidad. La transferencia de electrones puede causar la transferencia completa de átomos de hidrógeno, porque los protones son aceptados o cedidos con facilidad al agua en el interior de las células. En este ejemplo, A capta un electrón y un protón cuando se reduce, y B pierde un electrón y un protón cuando se oxida.

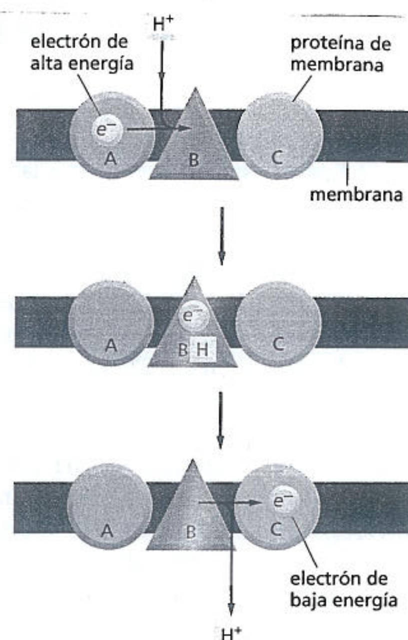


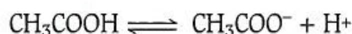
Figura 14-16. La orientación del transportador de electrones permite que la transferencia de electrones impulse el bombeo de protones. Cuando un electrón pasa a lo largo de la cadena de transporte de electrones puede unir y liberar un protón en cada paso. En este esquema, el transportador de electrones B capta un protón (H^+) de un lado de la membrana cuando acepta un electrón *(e^-)* del transportador A y libera el protón al otro lado de la membrana cuando cede su electrón al transportador C.

El potencial redox es una medida de las afinidades de los electrones

Las proteínas de la cadena respiratoria orientan los electrones de modo que puedan desplazarse en forma secuencial de un complejo enzimático al otro, sin cortocircuitos que salten un complejo. Cada transferencia de electrones es una reacción de oxidorreducción; como se describió en el capítulo 3, la molécula o el átomo que dona el electrón se convierte en oxidado, mientras que la molécula o el átomo que lo recibe se convierte en reducido (véanse pp. 87-88). Los electrones pasarán de manera espontánea desde las moléculas que tiene una afinidad relativamente baja para sus electrones disponibles y, por lo tanto, los pierden con facilidad, a las moléculas con mayor afinidad de electrones. Por ejemplo, el NADH con sus electrones de alta energía tiene una afinidad baja de electrones, de modo que sus electrones pasan con facilidad a la NADH deshidrogenasa. Las baterías eléctricas de nuestra experiencia común se basan en transferencias de electrones similares entre dos sustancias químicas con afinidades diferentes por los electrones.

En las reacciones bioquímicas, cualquier electrón eliminado de una molécula pasa siempre a otra, entonces cuando una molécula se oxida, otra se reduce. Como cualquier reacción química, la tendencia de que estas reacciones de oxidorreducción, o **reacciones redox**, procedan en forma espontánea depende de la variación de energía libre (ΔG) para la transferencia del electrón, que a su vez depende de las afinidades relativas de las dos moléculas por los electrones (la participación de la energía libre en las reacciones químicas se describe en el capítulo 3, pp. 91-92).

Como la transferencia de electrones provee la mayor parte de la energía de los seres vivos, es conveniente detenerse un momento para tratar de comprenderla. Muchos lectores ya están familiarizados con los ácidos y las bases, los que donan y aceptan protones (véase Lámina 2-2, pp. 66-67). Los ácidos y las bases existen como pares ácido-base conjugados, ya que el ácido se convierte rápidamente en una base por la pérdida de un protón. Por ejemplo, el ácido acético (CH_3COOH) se transforma en su base conjugada (CH_3COO^-) mediante la reacción:



$$CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3COO^- + H^+$$

De la misma manera, los pares de compuestos como el NADH y el NAD^+ se denominan **pares redox**, porque el NADH se convierte en el NAD^+ por la pérdida de electrones en la reacción:



$$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^-$$

El NADH es un fuerte dador de electrones: como sus electrones están unidos por un enlace de alta energía, la ΔG para transferir sus electrones a muchas otras moléculas es favorable. A la inversa, es difícil formar un enlace de alta energía en el NADH, de manera que su par, el NAD^+, es necesariamente un aceptor débil de electrones.

La tendencia para transferir electrones de cualquier par redox puede medirse en forma experimental. Todo lo que se necesita es formar un circuito eléctrico que enlace a una mezcla 1:1 (equimolar) del par redox con un segundo par redox arbitrariamente elegido como estándar de referencia, de manera que se pueda medir la diferencia de voltaje entre ambos (Lámina 14-1, p. 471). Esta diferencia de voltaje se define como potencial redox: los electrones se moverán espontáneamente desde un par redox como el $NADH/NAD^+$ con un potencial redox bajo (es decir, baja afinidad por los electrones) hacia un par redox como el O_2/H_2O con un

CÓMO EL ACOPLAMIENTO QUIMIOSMÓTICO IMPULSA LA SÍNTESIS DE ATP

En 1861 Louis Pasteur descubrió que las células de la levadura crecían y se dividían más activamente en presencia de oxígeno: fue la primera demostración de que el metabolismo aerobio es más eficiente que el metabolismo anaerobio. Sus observaciones le dieron sentido a lo que sabemos en la actualidad: la fosforilación oxidativa es un mecanismo mucho más eficiente que la glucólisis en la generación de ATP, ya que los sistemas de transporte de electrones producen alrededor de 30 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa oxidada, mientras que la glucólisis genera solamente 2 moléculas de ATP por cada molécula de glucosa. Sin embargo, tuvieron que pasar otros cien años para que los investigadores determinaran que el proceso de acoplamiento quimiosmótico –que bombea de protones y produce ATP– permite que las células generen energía con eficiencia similar.

Intermediarios imaginarios

En la década de 1950, muchos investigadores creían que la fosforilación oxidativa que tiene lugar en las mitocondrias produce ATP por un mecanismo similar al usado en la glucólisis. Durante la glucólisis, se forma ATP cuando una molécula de ADP recibe un grupo fosfato directamente de un intermediario de alta energía. Esta fosforilación "en el nivel de sustrato" sucede en los pasos 7 y 10 de la glucólisis, cuando se transfieren los grupos fosfato de alta energía desde el 1,3-bifosfoglicerato y fosfoenolpiruvato al ADP formando ATP (véase Lámina 13-1, pp. 430-431). Se suponía que la cadena de transporte de electrones en la mitocondria generaría en forma similar algún producto intermediario que podría entonces ceder su grupo fosfato directamente al ADP. Este modelo inspiró durante años una línea de investigación frustrante que se propuso encontrar ese intermediario misterioso. Los investigadores ocasionalmente anunciaban haber descubierto el intermediario perdido, pero se demostraba que los compuestos no tenían nada que ver con la cadena de transporte de electrones, o bien, como un investigador expresó en una revisión de la historia de la bioenergética, eran "productos con alta energía imaginaria".

Aprovechamiento de la fuerza protón-motriz

Recién en 1961 Peter Mitchell sugirió que el "intermediario de alta energía" que sus colegas estaban buscando era, en efecto, el gradiente electroquímico de protones generado por la cadena de transporte de electrones. Su propuesta proclamó la hipótesis quimiosmótica, que enuncia que la energía de un gradiente de H^+ originado durante la transferencia de electrones a través de la cadena de transporte puede ser aprovechada para estimular la síntesis de ATP.

Varias líneas experimentales apoyaban este acoplamiento quimiosmótico. En primer lugar, las mitocondrias efectivamente generan un gradiente de protones a través de su membrana interna. Pero, ¿qué hace este gradiente? Si el gradiente electroquímico de H^+ (también llamado fuerza protón-motriz) es necesario para impulsar la síntesis de ATP, como establece la hipótesis quimiosmótica la abolición de ese gradiente –o de la misma membrana– debería inhibir la generación de energía. Los investigadores comprobaron que esto era cierto. La ruptura física de la membrana mitocondrial interna detiene la síntesis de ATP. De la misma manera, la disipación del gradiente de protones mediante agentes químicos "desacoplantes" como el 2,4-dinitrofenol también impide la formación de ATP. Estas sustancias que alteran el gradiente se insertan en la membrana mitocondrial interna, donde actúan como transportadores de H^+, y proveen una vía para el flujo de H^+ que evitan la acción de la ATP sintasa (Fig. 14-17). De esta manera desacoplan el transporte de electrones de la síntesis de ATP. Como resultado de este cortocircuito, la fuerza protón-motriz se disipa por completo y ya no puede producirse ATP.

Ese desacoplamiento se produce en forma natural en algunas células adiposas especializadas. En estas células, denominadas *células adiposas pardas*, la mayoría de la energía de la oxidación se disipa como calor, en lugar de convertirse en ATP. Las membranas internas de las grandes mitocondrias de estas célu-

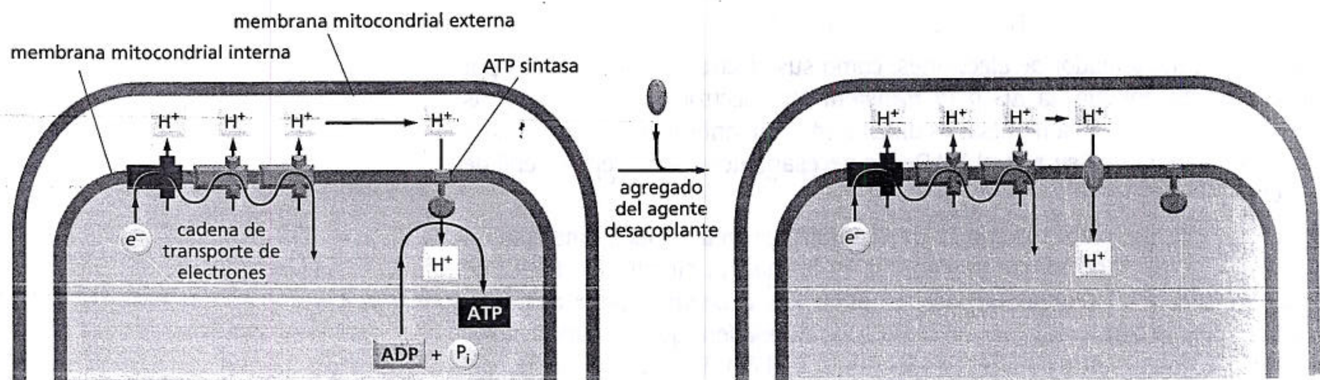


Figura 14-17. Los agentes desacoplantes son transportadores de H^+ que se pueden insertar en la membrana mitocondrial interna. Los agentes desacoplantes tornan a la membrana permeable a los protones y permiten el flujo de H^+ hacia el interior de la mitocondria sin pasar a través de la ATP sintasa. Este cortocircuito efectivamente desacopla el transporte de electrones de la síntesis de ATP.

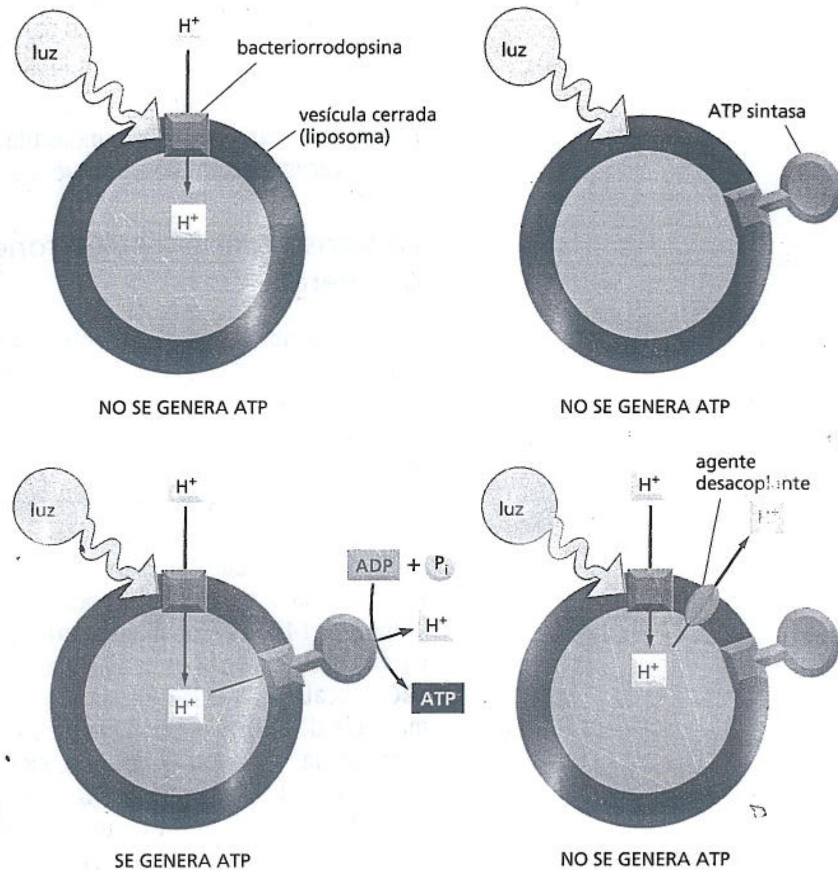


Figura 14-18. Los experimentos con bacteriorrodopsina y una ATP sintasa de las mitocondrias del corazón bovino aportan indicios firmes de que los gradientes de protones pueden potenciar la producción de ATP. Cuando se añade bacteriorrodopsina a las vesículas artificiales, la proteína genera un gradiente de protones en respuesta a la luz. En las vesículas artificiales que contienen tanto bacteriorrodopsina como una ATP sintasa, este gradiente de protones activa la formación de ATP. Los agentes desacoplantes, que anulan el gradiente de protones, suprimen la síntesis de ATP.

las contienen una proteína de transporte especial que permite a los protones desplazarse a favor de su gradiente electroquímico y evitar a la ATP sintasa. Como resultado, las células oxidan sus depósitos de grasa con gran velocidad y producen más calor que ATP. Los tejidos que contienen grasa parda sirven como almohadillas térmicas biológicas y ayudan a la reanimación de los animales que hibernan y protegen del frío a las áreas sensibles de los recién nacidos (como la región posterior del cuello).

Producción artificial de ATP

Si la rotura del gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial impide la síntesis de ATP, a la inversa, generar un gradiente artificial de protones debería estimular la producción de ATP. Esto es precisamente lo que sucede. Cuando se impone artificialmente un gradiente de H^+ al disminuir el pH en el lado citoplasmático de la membrana mitocondrial, se sintetiza ATP, incluso en ausencia de un sustrato oxidable.

¿Cómo estimula la síntesis de ATP ese gradiente de protones? En este momento es cuando entra en consideración la ATP sintasa. En 1974 Efraim Racker y Walther Stoeckenius demostraron que la combinación de la ATP sintasa más un gradiente de protones produce ATP. Estos investigadores descubrieron que podían reconstituir un sistema completamente artificial de generación de energía al combinar una ATPasa de mitocondrias del corazón de vaca con una proteína de la membrana púrpura de *Halobacterium halobium*. Como se señaló en el capítulo 11, la membrana plasmática de esta Archaea está condensada con la bacteriorrodopsina, una proteína que bombea H^+ al exterior de la célula en respuesta a la luz solar (véase Fig. 11-28). Por lo tanto, la proteína de la membrana púrpura genera un gradiente de protones cuando se la expone a la luz.

Racker y Stoeckenius demostraron que cuando se reconstituye la bacteriorrodopsina en vesículas lipídicas artificiales en presencia de luz, la enzima bombea H^+ dentro de las vesículas y genera un gradiente de protones (por alguna causa, la orientación de la proteína en estas membranas está invertida, de manera que los H^+ son transportados hacia adentro de las vesículas; en la bacteria, los protones son bombeados hacia afuera). Cuando una ATPasa purificada de las mitocondrias se incorpora dentro de estas vesículas, el sistema cataliza la síntesis de ATP en respuesta a la luz. Esta formación de ATP requiere el gradiente de H^+, como descubrieron estos investigadores al eliminar la bacteriorrodopsina del sistema o al agregar agentes desacoplantes que suprimieron la síntesis de ATP (Fig. 14-18).

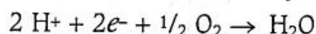
Por lo tanto, aunque la hipótesis inicial de Mitchell fue muy resistida –los bioquímicos tenían la esperanza de descubrir un producto intermediario de alta energía antes de contentarse con una fuerza electroquímica fugaz– la evidencia experimental acumulada que sostenía la importancia del acoplamiento quimiosmótico en la generación celular de energía no pudo ser ignorada, y Mitchell fue distinguido con el premio Nobel en 1978.

potencial redox alto (o sea, alta afinidad por los electrones). Por lo tanto, el NADH es una molécula apropiada para donar electrones a la cadena respiratoria, mientras que el O_2 es más adecuado para actuar como "sumidero" de electrones al final de la vía. Como se explicó en la lámina 14-1, la diferencia en el potencial redox, $\Delta E'_0$ es una medida directa de la variación de energía libre (ΔGo) para la transferencia de un electrón de una molécula a otra. De hecho, $\Delta E'_0$ es simplemente igual a ΔGo veces un número negativo que es una constante.

La transferencia de electrones libera grandes cantidades de energía

Como se acaba de expresar, aquellos pares de compuestos con potenciales redox más negativos (E'_0) tienen la afinidad más débil por los electrones y, como resultado, la tendencia máxima para donar electrones. A la inversa, aquellos pares con los potenciales redox más positivos tienen la afinidad más fuerte por los electrones y, por lo tanto, una tendencia máxima para aceptar electrones. Una mezcla 1:1 de NADH y NAD^+ tiene un potencial redox de –320 mV, lo que indica que el NADH tiene una fuerte tendencia a donar electrones; una mezcla 1:1 de H_2O y $^1/_2\ O_2$ tiene un potencial redox de +820 mV, lo que indica que el O_2 tiene una fuerte tendencia a aceptar electrones. La diferencia en el potencial redox es de 1,14 voltios (1.140 mV), de manera que la transferencia de cada electrón del NADH al O_2 en estas condiciones estándares es enormemente favorable, por cuanto $\Delta G^o =$ –26,2 kcal/mol (–52,4 kcal/mol para los dos electrones transferidos por cada molécula de NADH; véase Lámina 14-1). Si se compara esta variación de energía libre con la variación de la formación de los enlaces fosfoanhidridos en el ATP ($\Delta G^o = +7{,}3$ kcal/mol; véase Fig. 13-7), puede apreciarse que se libera suficiente energía por la oxidación de una molécula de NADH como para sintetizar varias moléculas de ATP a partir del ADP y el P_i.

En los sistemas vivientes podrían haber evolucionado enzimas que permitieran al NADH donar los electrones directamente al O_2 y formar agua mediante la reacción:



$$2\ H^+ + 2e^- + {}^1/_2\ O_2 \rightarrow H_2O$$

Pero, como consecuencia de la enorme disminución de la energía libre, esta reacción se produciría con una fuerza casi explosiva y prácticamente toda la energía se liberaría en forma de calor. En cambio, la reacción energéticamente favorable $2\ H^+ + 2e^- + {}^1/_2\ O_2 \rightarrow H_2O$ ocurre en varias etapas pequeñas, lo que permite que alrededor de la mitad de la energía que se libera pueda ser almacenada, en lugar de perderse como calor en el medio.

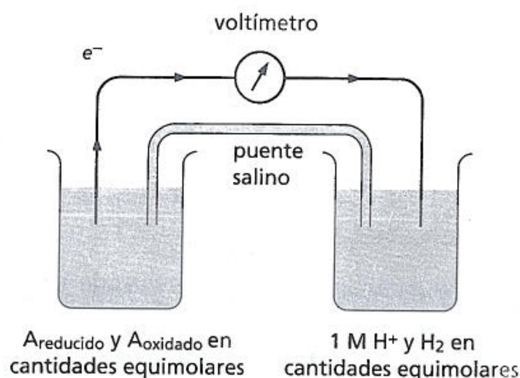
Los metales unidos estrechamente a las proteínas constituyen transportadores de electrones versátiles

Dentro de cada uno de los tres complejos enzimáticos respiratorios, los electrones se desplazan con preferencia entre átomos de metales que están unidos fuertemente a las proteínas, saltando de un ión metálico a otro con mayor afinidad por los electrones. Por el contrario, los electrones se desplazan entre los diferentes complejos respiratorios con moléculas que difunden a lo largo de la bicapa lipídica, las que captan electrones de un complejo y los liberan en el próximo siguiendo una secuencia ordenada. Tanto en la cadena respiratoria como en la cadena de transporte de electrones fotosintética uno de estos transportadores es una **quinona**, una pequeña molécula hidrófoba que se disuelve en una bicapa lipídica; en la cadena respiratoria mitocondrial, la quinona se denomina *ubiquinona*. Las quinonas son los únicos transportadores de electrones en las cadenas de transporte de electrones que pueden funcionar sin estar unidas estrechamente a una proteína.

La ubiquinona toma electrones del complejo de la NADH deshidrogenasa y los libera al complejo del citocromo b-c_1 (véase Fig. 14-9). La ubiquinona puede captar o donar tanto uno como dos electrones y con cada electrón que transporta

LÁMINA 14-1 Potenciales redox

CÓMO SE MIDEN LOS POTENCIALES REDOX



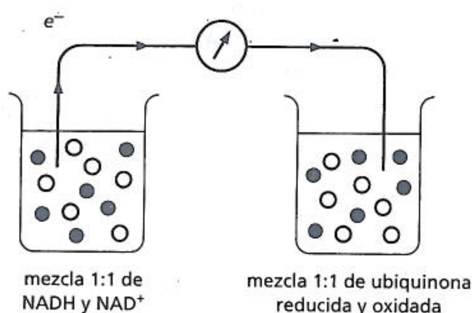
Un recipiente (izquierda) contiene la sustancia A con una mezcla equimolar de los miembros reducido ($A_{reducido}$) y oxidado ($A_{oxidado}$) de su par redox. El otro recipiente contiene el estándar de referencia de hidrógeno ($2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$), en el que el potencial redox se definió en forma arbitraria como cero por un acuerdo internacional (un puente salino formado a partir de una solución concentrada de ClK permite que el K+ y el Cl^- se desplacen entre los recipientes y neutralicen las cargas cuando los electrones fluyen entre ambos). El alambre metálico (rojo) permite el paso sin resistencia de los electrones, y un voltímetro mide el potencial redox de la sustancia A. Si los electrones fluyen desde ($A_{reducido}$) hasta H^+, como se indica en la figura, se dice que el par redox formado por la sustancia A tiene un potencial redox negativo. Si por el contrario, fluyen desde H_2 hasta $A_{oxidado}$, decimos que el par redox tiene un potencial redox positivo.

Por convención, el potencial redox de un par redox se denomina E. Como las reacciones biológicas se producen a pH 7, los biólogos definen el estado estándar como $A_{reducido} = A_{oxidado}$ y $H^+ = 10^{-7}$ M y lo utilizan para determinar el potencial redox estándar E_0.

	Potencial redox E_0
$NADH \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2e^-$	–320 mV
ubiquinona reducida $\rightleftharpoons$ ubiquinona oxidada $+ 2H^+ + 2e^-$	+30 mV
citocromo *c* reducido $\rightleftharpoons$ citocromo *c* oxidado $+ e^-$	+230 mV
$H_2O \rightleftharpoons \frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^-$	+820 mV

CÁLCULO DE $\Delta G°$ A PARTIR DE LOS POTENCIALES REDOX

$$\Delta E_0 = E_0(\text{aceptor}) - E_0(\text{dador})$$
$$\Delta E_0 = +30 - (-320) = +350$$



$\Delta G° = -n(0{,}023)\,\Delta E_0$, donde n es el número de electrones transferidos a través de una variación de potencial redox de ΔE_0 milivoltios (mV)

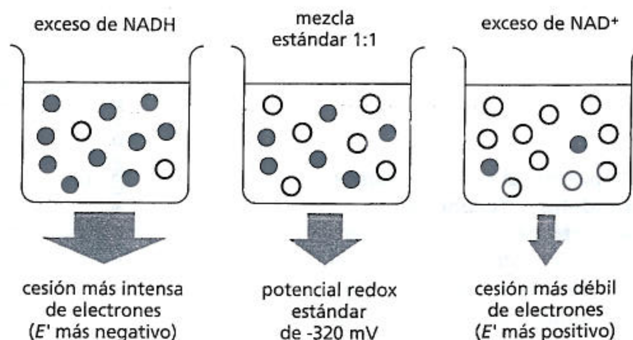
Ejemplo: la transferencia de un electrón del NADH a la ubiquinona tiene una $\Delta G°$ favorable de –8,0 kcal/mol, calculado de la siguiente manera:

$$\Delta G° = -n(0{,}023)\Delta E_0 = -1(0{,}023)(350) = -8{,}0 \text{ kcal/mol}$$

El mismo cálculo revela que la transferencia de un electrón de la ubiquinona al oxígeno tiene una $\Delta G°$ aún más favorable de –18,2 kcal/mol. El valor de $\Delta G°$ para la transferencia de un electrón del NADH al oxígeno es la suma de estos dos valores, es decir, -26,2 kcal/mol.

EFECTO DE LOS CAMBIOS DE CONCENTRACIÓN

Como se explicó en el capítulo 3 (véase p. 92), el cambio real de energía libre para una reacción, ΔG, depende de la concentración de los reactantes y suele ser diferente de la variación estándar de energía libre, $\Delta G°$. Los potenciales redox estándares se definen para una mezcla 1:1 del par redox. Por ejemplo, el potencial redox estándar de -320 mV es el de una mezcla 1:1 de NADH y NAD^+. Pero cuando hay un exceso de NADH respecto de NAD^+, la transferencia de electrones desde el NADH hacia un aceptor de electrones resulta más favorable. Esto se refleja en un potencial redox más negativo y una ΔG más negativa para la transferencia de electrones.



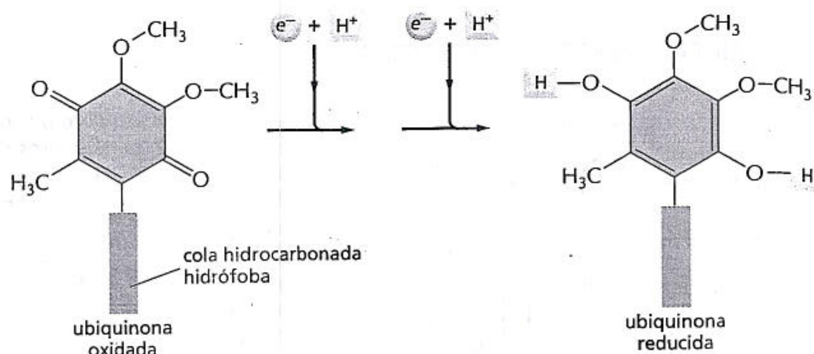


Figura 14-19. Las quinonas transportan electrones en la bicapa lipídica. La quinona en la cadena mitocondrial de transporte de electrones se denomina ubiquinona. Ésta capta un H^+ del medio acuoso por cada electrón que acepta y puede transportar dos electrones como parte de un átomo de hidrógeno (*amarillo*). Cuando la ubiquinona reducida cede sus electrones al próximo transportador de la cadena, se liberan los protones. La cola hidrófoba larga limita a la ubiquinona a la membrana y está formada por 6 a 10 unidades de isopreno de 5 carbonos cada una, cuyo número depende del organismo de que se trate.

toma un H^+ de las inmediaciones (**Fig. 14-19**). Su potencial redox de +30 mV sitúa a la ubiquinona, en términos de pérdida de energía, aproximadamente en la primera cuarta parte de la vía hacia el final de la cadena a partir del NADH (**Fig. 14-20**). La ubiquinona también puede recibir electrones directamente del $FADH_2$ generado por el ciclo del ácido cítrico o por la oxidación de los ácidos grasos. Como estos electrones evitan la NADH deshidrogenasa, que es una de las bombas de protones en la cadena de transporte de electrones, causan menos bombeo de protones que el producido por los dos electrones transportados por el NADH.

El resto de los transportadores de electrones en la cadena transportadora de electrones son moléculas pequeñas o grupos que contienen metales que están estrechamente unidos a las proteínas. Por ejemplo, para llegar a la ubiquinona a partir del NADH, los electrones son transferidos al interior del complejo de la NADH deshidrogenasa, entre un grupo flavina (véase su estructura, Fig. 13-12) unido a una de las proteínas y un conjunto de **centros ferrosulfurados** de potenciales redox crecientes. El centro ferrosulfurado final en la deshidrogenasa dona sus electrones a la ubiquinona.

Los centros ferrosulfurados tienen una afinidad relativamente baja por los electrones y, por esto, son prominentes en la parte inicial de la cadena de transporte de electrones. Más tarde, en el tramo que va desde la ubiquinona hasta el O_2, los átomos de hierro en los grupos hemo que están íntimamente unidos a las proteínas del citocromo suelen actuar como transportadores de electrones, como en los complejos del citocromo b-c_1 y de la citocromo oxidasa. Los **citocromos** constituyen una familia de proteínas coloreadas (de allí su nombre, del griego *chroma*, "color"); cada uno contiene uno o dos grupos hemo cuyo átomo de hierro pasa del estado férrico (Fe^{3+}) al ferroso (Fe^{2+}) cada vez que acepta un electrón. Como es de esperar, los diferentes citocromos aumentan su potencial redox a medida que

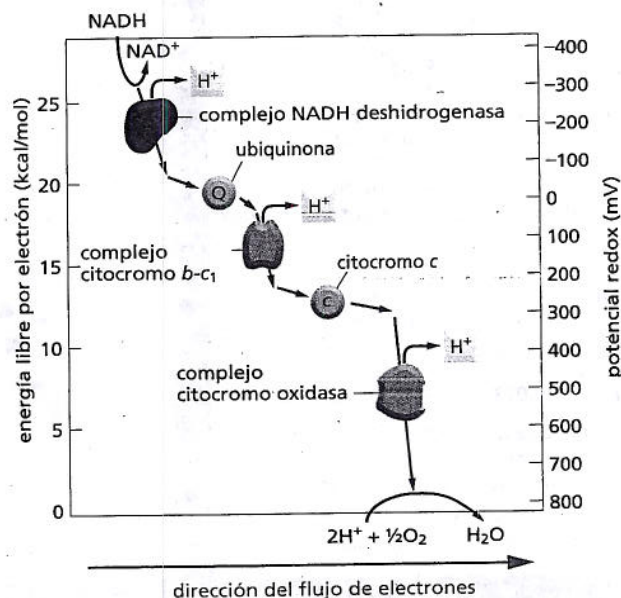


Figura 14-20 El potencial redox aumenta a lo largo de la cadena mitocondrial de transporte de electrones. Obsérvese que los elevados aumentos del potencial redox se producen a través de los tres complejos enzimáticos respiratorios, como lo requiere cada uno de ellos para poder bombear protones. Para convertir los valores de energía libre a kJ/mol, recuérdese que 1 kilocaloría es igual a casi 4,2 kilojulios.

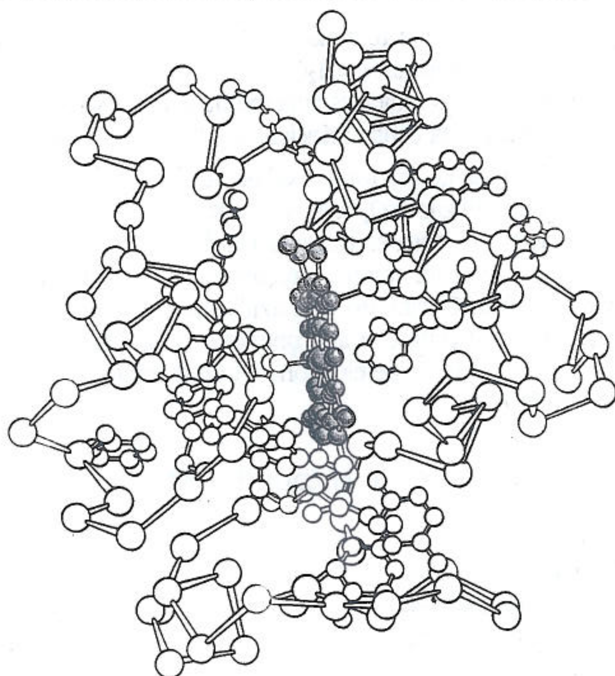


Figura 14-21. El citocromo *c* es un transportador de electrones de la cadena de transporte de electrones. Esta pequeña proteína contiene poco más de 100 aminoácidos y se fija laxamente a la cara externa de la membrana interna por interacciones iónicas (véase Fig. 14-19). El átomo de hierro (*anaranjado*) unido al grupo hemo (*azul*) puede transportar solamente un único electrón. La estructura del grupo hemo de la hemoglobina, que se une en forma reversible al O_2 en lugar de hacerlo con un electrón, se mostró en la figura 4-33.

se avanza por la cadena mitocondrial de transporte de electrones en dirección al oxígeno. La estructura del *citocromo c*, la pequeña proteína que transporta los ectrones entre el complejo del citocromo b-c_1 y el complejo de la citocromo oxidasa, se ilustra en la figura 14-21: su potencial redox es +230 mV.

En el extremo final de la cadena respiratoria, justo antes del oxígeno, los transportadores de electrones pertenecen al complejo de la citocromo oxidasa. Los transportadores son aquí átomos de hierro en los grupos hemo o átomos de cobre unidos estrechamente al complejo de una manera que le confiere un potencial redox elevado.

PREGUNTA 14-6

En muchos de los pasos de la cadena de transporte de electrones, los iones Fe se utilizan como parte del hemo o como grupos FeS para unir los electrones en tránsito. ¿Por qué estos grupos funcionales que constituyen la base química de la transferencia de electrones necesitan unirse a las proteínas? Dé varias razones diferentes para explicar por qué esto es necesario.

La citocromo oxidasa cataliza la reducción del oxígeno

La **citocromo oxidasa** recibe electrones del citocromo *c* y los oxida (de ahí su nombre). A continuación, dona estos electrones al oxígeno. En forma breve, cuatro electrones del citocromo *c* y cuatro protones del medio acuoso se añaden a cada molécula de O_2 en la reacción $4e^- + 4H^+ + O_2 \rightarrow 2\ H_2O$. Además de los protones que se acoplan con el O_2, otros cuatro protones se bombean a través de la membrana durante la transferencia de electrones y se genera el gradiente electroquímico de protones.

De hecho, para que se produzca el bombeo de protones, éstos deben estar acoplados de algún modo a reacciones favorables desde el punto de vista energético. En el caso de la citocromo oxidasa proviene de la transferencia de una serie de cuatro electrones a una molécula de O_2 que está estrechamente unido a la proteína; estas transferencias de electrones impulsan cambios alostéricos en la conformación de la proteína que desplazan protones hacia afuera de la matriz mitocondrial. En su sitio activo, la citocromo oxidasa contiene un complejo de un átomo de hierro del grupo hemo yuxtapuesto con un átomo de cobre íntimamente unido (Fig. 14-22). Es aquí donde se utiliza prácticamente todo el oxígeno que respiramos, el que sirve como depósito final de los electrones que el NADH cedió al comienzo de la cadena de transporte de electrones.

El oxígeno es útil para este propósito a causa de su elevadísima afinidad por los electrones. Sin embargo, una vez que el O_2 captura un electrón forma el radical superóxido O_2^-; este radical es peligrosamente reactivo y tomará con avidez otros tres electrones dondequiera que los encuentre, una tendencia que puede causar un daño grave al DNA próximo, a las proteínas y a las membranas lipídicas. Una de las funciones de la citocromo oxidasa es la de mantener estrechamente unida la

molécula de oxígeno hasta que la totalidad de los cuatro electrones necesarios para transformarla en dos moléculas de H_2O estén disponibles y de esta manera impide un ataque al azar de los radicales superóxido a las macromoléculas celulares, daño considerado como la causa principal del envejecimiento humano.

Por esa razón, la aparición de la citocromo oxidasa fue esencial para la formación de las células que podrían utilizar al O_2 como aceptor de electrones. Se estima que la reacción de la citocromo oxidasa es responsable del 90% de la captación total de O_2 en los seres humanos. Este complejo proteico es, en consecuencia, fundamental para la vida aerobia. El cianuro y la azida son extremadamente tóxicos porque se unen en forma estrecha con los complejos de la citocromo oxidasa en las células y detienen el transporte de electrones, lo que reduce de manera considerable la producción de ATP.

El mecanismo de bombeo de H^+ puede estudiarse en el nivel atómico

El mecanismo detallado por el que el transporte de electrones se acopla al bombeo de H^+ es diferente para los tres complejos enzimáticos respiratorios. Por ejemplo, la ubiquinona desempeña una función central en el bombeo de protones a través del complejo del citocromo *b*-c_1; la quinona toma un H^+ del medio acuoso por cada electrón que transporta y lo libera cuando se desprende el electrón (Fig. 14-19). Como la ubiquinona se desplaza libremente en la bicapa lipídica, puede aceptar electrones en la proximidad de la superficie interna de la membrana y donarlos al complejo del citocromo *b*-c_1 en las cercanías de la superficie exterior. De esta manera, la ubiquinona transfiere a través de la membrana un H^+ por cada electrón que transporta. Sin embargo, se bombean dos protones por electrón en el complejo del citocromo *b*-c_1, y hay pruebas firmes del denominado *ciclo Q*, en el que la ubiquinona es reciclada a través del complejo de una manera que hace posible esta transferencia dos a uno.

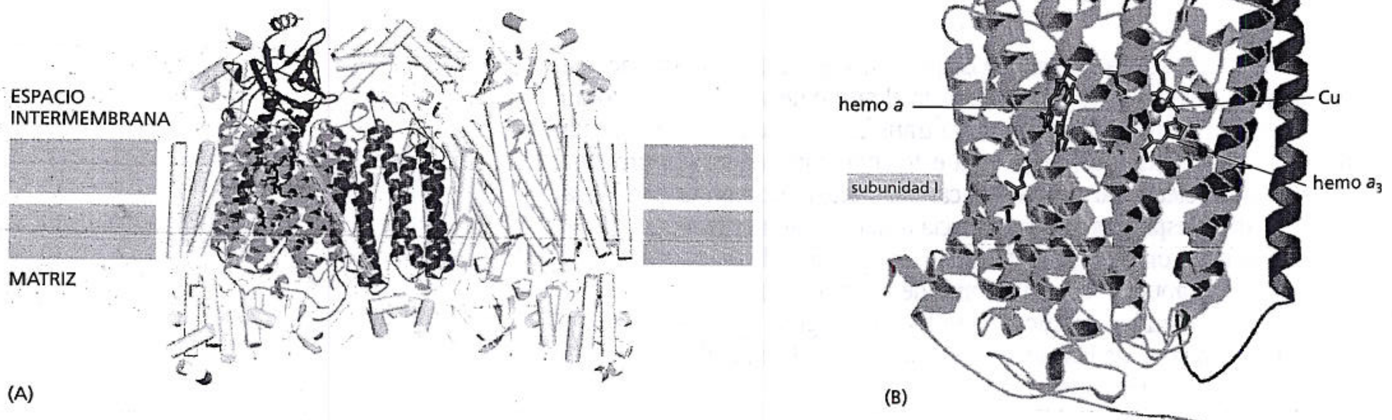


Figura 14-22. La citocromo oxidasa es una máquina proteica delicadamente afinada. La proteína es un dímero formado a partir de un monómero con 13 subunidades proteicas diferentes. Las tres subunidades coloreadas que forman el núcleo funcional del complejo están codificadas por el genoma mitocondrial. Como los electrones pasan a través de esta proteína en su camino hacia la unión con una molécula de O_2, hacen que la proteína bombee protones a través de la membrana. (A). Se muestra la proteína completa, situada en la membrana mitocondrial interna. (B). Los transportadores de electrones están localizados en las subunidades I y II, como se indica.

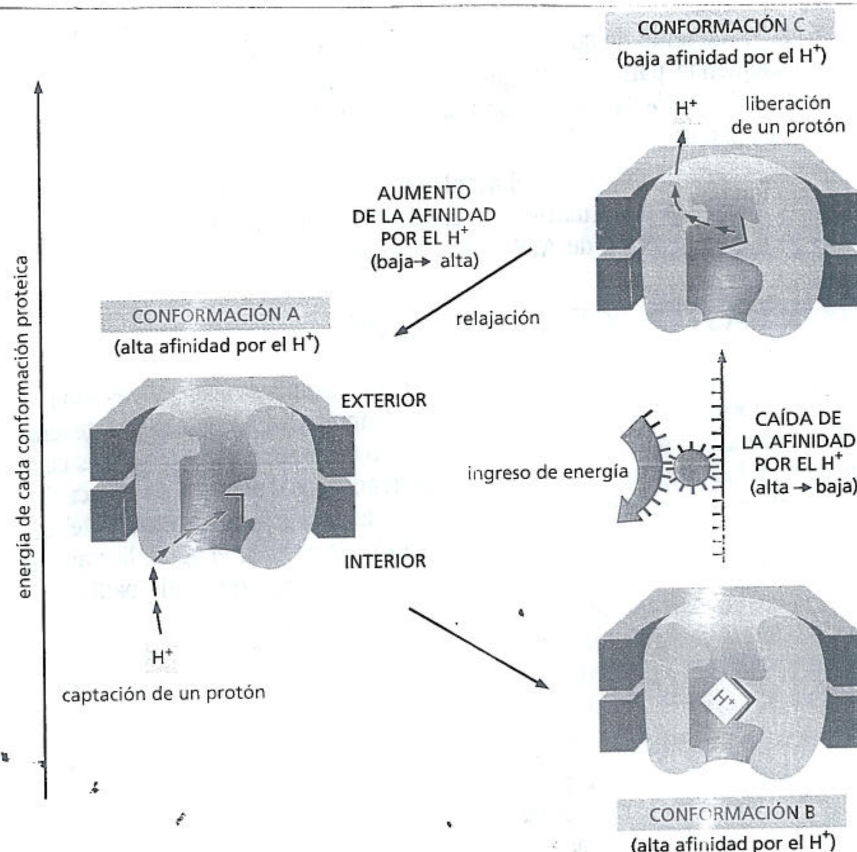


Figura 14-23. El bombeo de H^+ puede ser causado por un cambio en la conformación de una bomba proteica, dirigido por una reacción energéticamente favorable. Este modelo de bombeo de H^+ por medio de una proteína transmembrana está basado en mecanismos que presumiblemente son utilizados por la NADH deshidrogenasa y la citocromo oxidasa, así como por muchas otras bombas de protones. La proteína es impulsada a través de un ciclo de tres conformaciones: A, B y C. Como se indica por su disposición vertical, estas conformaciones proteicas tienen diferentes energías. En las conformaciones A y B la proteína tiene una alta afinidad por los H^+, lo que ocasiona que capte un H^+ en el interior de la membrana. En la conformación C, la proteína tiene una baja afinidad por los H^+, y ello determina la liberación de H^+ en el exterior de la membrana. La transición de la conformación B a la conformación C que libera el H^+ es energéticamente desfavorable y sólo se produce porque es estimulada por un acoplamiento alostérico con una reacción energéticamente favorable que se produce en cualquier otra parte de la proteína (flecha azul). Respecto de la citocromo oxidasa y la NADH deshidrogenasa, esta reacción se realiza por el transporte de electrones. Los otros dos cambios conformacionales A → B y C → A conducen a estados de menor energía y avanzan en forma espontánea. Dado que el ciclo global, A → B y C → A, libera energía libre, el H^+ es bombeado desde el interior de la matriz mitocondrial hacia afuera, al espacio intermembrana. En otras bombas de protones, como la bomba de Ca^{2+} en las células musculares, la energía requerida para el cambio conformacional B → C procede de la hidrólisis del ATP (véase Fig. 12-15). En el caso de la bacteriorrodopsina esta energía proviene de la luz solar (véase Fig. 11-28).

Los cambios alostéricos en las conformaciones de las proteínas pueden bombear también H^+. Tanto para el complejo de la NADH deshidrogenasa como para el complejo de la citocromo oxidasa, parece probable que el transporte de electrones determine cambios alostéricos secuenciales en la conformación de las proteínas que ocasionan que una parte de éstas bombee H^+ a través de la membrana mitocondrial interna. En la figura 14-23 se presenta el mecanismo general de este tipo de bombeo de H^+.

La respiración es extraordinariamente eficiente

Las variaciones de energía libre para quemar grasas e hidratos de carbono directamente en CO_2 y H_2O pueden compararse con la cantidad total de energía generada y almacenada en los puentes fosfato del ATP durante las oxidaciones biológicas correspondientes. Cuando esto sucede, se observa que la eficiencia con que la energía de la oxidación se transforma en energía de enlace del ATP es muchas veces mayor del 40%. Este valor es considerablemente más elevado que la eficiencia de la mayoría de los mecanismos no biológicos de transformación de la energía. Si las células trabajaran sólo con la eficiencia de un motor eléctrico o un motor de gasolina (10 a 20%), un organismo tendría que comer vorazmente para mantenerse a sí mismo. Por otra parte, como la energía no utilizada se libera en forma de calor, los organismos de gran tamaño –incluido el ser humano– necesitarían mecanismos mucho más eficientes de los que tienen en la actualidad para liberar calor al ambiente.

Los estudiantes a veces se preguntan por qué las interconversiones químicas en las células siguen esos caminos tan complejos. Por cierto, la oxidación de los azúcares a CO_2 y H_2O podría realizarse en forma más directa mediante la eliminación del ciclo del ácido cítrico y muchas de las etapas de la cadena respiratoria. Esto haría que la respiración celular fuera más fácil de aprender para los estudiantes, pero sería un desastre para las células. La oxidación genera enormes cantidades de energía libre, que puede ser utilizada en forma eficiente sólo en pequeñas cantidades. Las vías oxidativas biológicas implican muchos productos intermediarios,

PREGUNTA 14-7

Dos transportadores de electrones difusibles, la ubiquinona y el citocromo c, transfieren electrones entre los tres complejos proteicos de la cadena. ¿En principio, el mismo transportador difusible podría ser utilizado para ambos pasos? Explique su respuesta.

cada uno algo diferente de su antecesor. La energía liberada es por lo tanto contenida en pequeñas parcelas que pueden ser transformados eficientemente en enlaces de alta energía en moléculas útiles, como el ATP y el NADH, mediante reacciones acopladas (véase Fig. 13-1).

Ya hemos explicado de qué forma el acoplamiento quimiosmótico produce ATP en las mitocondrias, y a continuación se explicará cómo se aprovecha la energía lumínica para la generación de ATP en los cloroplastos.

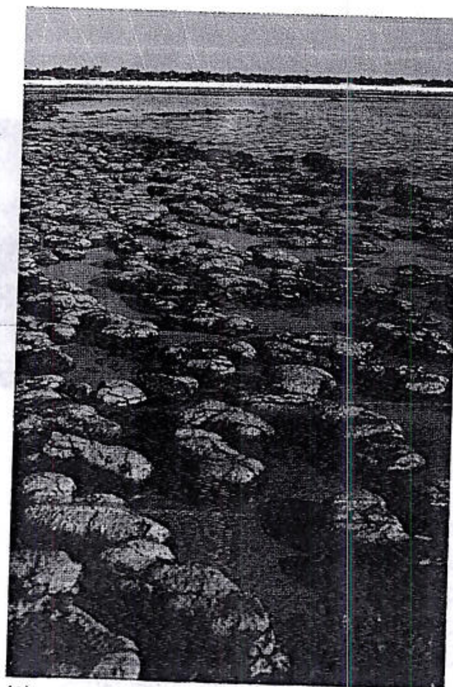
CLOROPLASTOS Y FOTOSÍNTESIS

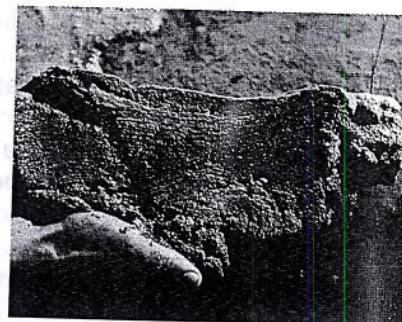
Prácticamente todas las sustancias orgánicas que necesitan las células vivas son producidas por **fotosíntesis**: las series de reacciones impulsadas por la luz que generan moléculas orgánicas a partir del dióxido de carbono de la atmósfera (CO_2). Las plantas, las algas y las bacterias fotosintéticas más avanzadas, como las cianobacterias, utilizan los electrones del agua y la energía de la luz solar para transformar el CO_2 atmosférico en compuestos orgánicos. En el proceso de escindir el agua, liberan a la atmósfera grandes cantidades de O_2 gaseoso, que a su vez es necesario para la respiración celular, en los animales, en las plantas y en muchas bacterias. Por lo tanto, la actividad de las bacterias fotosintéticas primitivas, que colmaron la atmósfera de oxígeno, permitió la evolución de formas de vida que utilizan el metabolismo aerobio en la producción de ATP (Fig. 14-24).

En las plantas, la fotosíntesis se lleva a cabo en un orgánulo intracelular especializado: el **cloroplasto**, que contiene pigmentos que capturan la luz, como el pigmento verde clorofila. Todas las partes verdes de una planta contienen cloroplastos, pero en la mayoría de las plantas las hojas son los sitios principales de la fotosíntesis. Los cloroplastos realizan la fotosíntesis durante las horas luminosas del día. El proceso produce ATP y NADH, que a su vez son utilizados en la transformación del CO_2 en azúcares en el interior de los cloroplastos. Comenzaremos el estudio de la fotosíntesis mediante la descripción de la estructura de este orgánulo especializado.

Los cloroplastos se asemejan a las mitocondrias pero tienen un compartimiento adicional

Los cloroplastos llevan a cabo sus interconversiones de energía mediante gradientes de protones en una forma bastante similar a la de las mitocondrias. Aunque


(A)


(B)

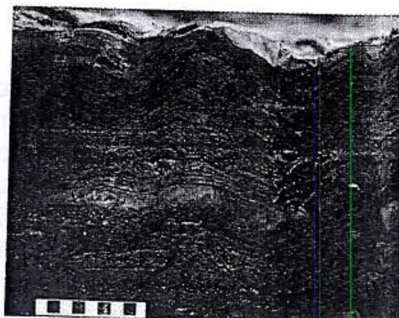
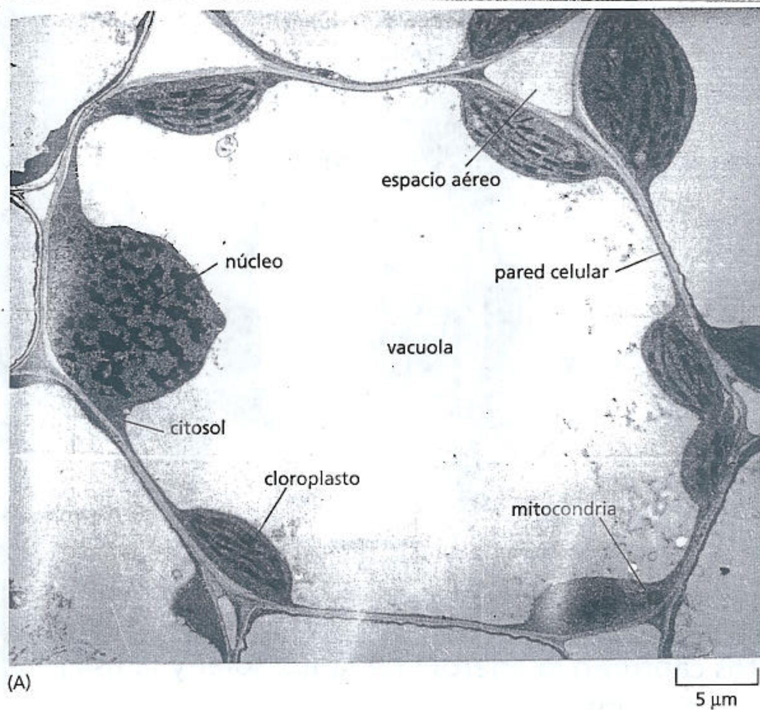
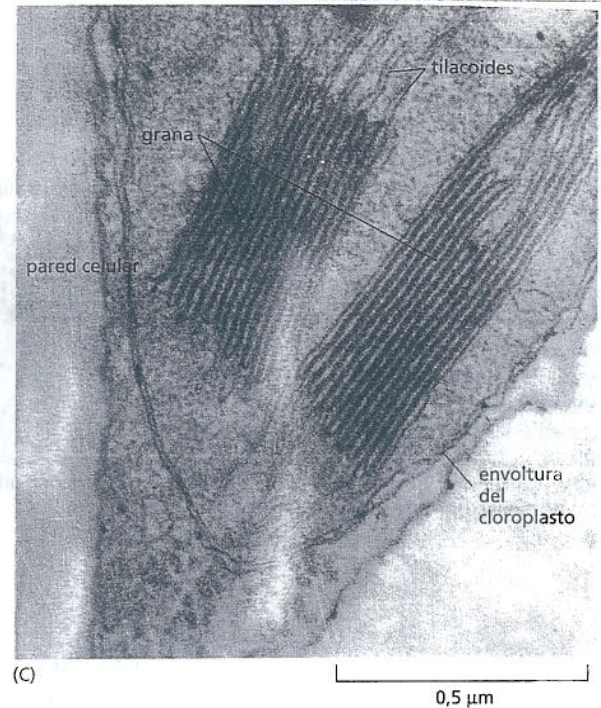

(C)

Figura 14-24. Los microorganismos que liberan oxígeno mediante la fotosíntesis cambiaron la atmósfera de la Tierra. (A). Estromatolitos vivos en una laguna del oeste de Australia. Estas estructuras son producidas por colonias grandes de cianobacterias fotosintéticas que desprenden oxígeno y que se depositan en capas sucesivas de material. (B). Corte transversal de un estromatolito moderno, que muestra su estructura laminar. (C). Corte transversal de un estromatolito fósil en una roca de 3,5 mil millones de años de antigüedad. Se observa que la estructura laminar es semejante. Los estromatolitos fósiles se habrían formado por bacterias fotosintéticas muy similares a las cianobacterias actuales. La actividad de bacterias como éstas, que liberan O_2 como producto de la fotosíntesis, podría haber modificado lentamente la atmósfera de la Tierra. (A, cortesía de Sally Birch, con autorización de Oxford Scientific Films; B y C, cortesía de S.M. Awramik, University of California/Biological Photo Service).





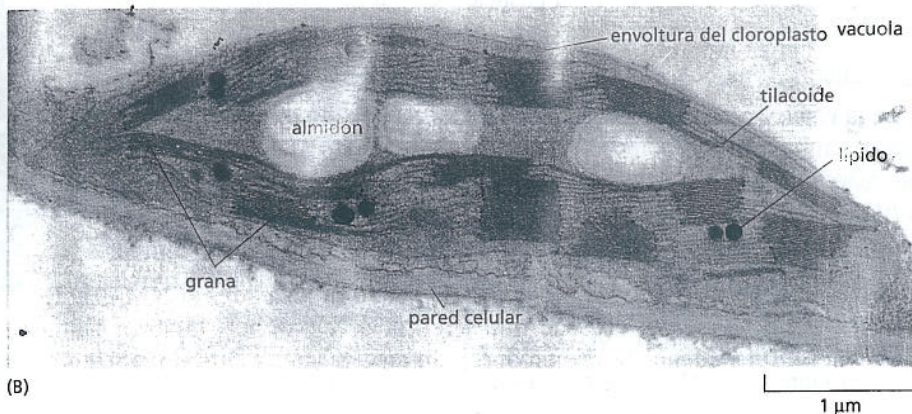


Figura 14-25. La fotosíntesis se realiza en los cloroplastos. Las microfotografías electrónicas muestran la estructura de los cloroplastos. (A). La célula de una hoja de trigo presenta una enorme vacuola rodeada por un reborde delgado de citoplasma que contiene el núcleo, los cloroplastos y las mitocondrias. (B). Corte delgado de un cloroplasto aislado que muestra la envoltura, los gránulos de almidón y las gotas de lípidos (grasa) que se han acumulado en la estroma como resultado de la biosíntesis que se realiza allí. (C). Imagen con mayor aumento de dos granas, nombre con el que se designa a las pilas de tilacoides. (Cortesía de K. Plaskitt).

son de mayor tamaño (Fig. 14-25A), están organizados de acuerdo con los mismos principios. Tienen una membrana externa muy permeable, una membrana interna mucho menos permeable –en la que están alojadas las proteínas transportadoras de membrana– y un estrecho espacio intermembrana entre ambas. Estas membranas forman en conjunto la envoltura del cloroplasto (Fig. 14-25B). La membrana interna delimita un espacio de gran tamaño llamado **estroma**, que es análogo a la matriz mitocondrial y contiene numerosas enzimas metabólicas.

Sin embargo, hay una diferencia importante entre la organización de las mitocondrias y los cloroplastos. La membrana interna de los cloroplastos carece de cadenas de transporte de electrones. En cambio, los sistemas de captación de la luz, las cadenas de transporte de electrones y la ATP sintasa están todos envueltos en la *membrana tilacoide*, una tercera membrana que forma un conjunto de sacos aplanados de forma discoidal, los tilacoides (Fig. 14-25C). Estos sacos están dispuestos en pilas, y se cree que el espacio interior de cada tilacoide se comunica con el de otros tilacoides, lo que define un tercer compartimiento interno continuo separado de la estroma por la membrana tilacoide (Fig. 14-26). Las semejanzas y las diferencias estructurales entre las mitocondrias y los cloroplastos se ilustran en la figura 14-27.

PREGUNTA 14-8

Los cloroplastos tienen un tercer compartimiento interno, el espacio tilacoide, delimitado por la membrana tilacoide. Esta membrana contiene los fotosistemas, los centros de reacción, la cadena de transporte de electrones y la ATP sintasa. Por el contrario, las mitocondrias utilizan su membrana interna para el transporte de electrones y la síntesis de ATP. En ambos orgánulos los protones son bombeados desde el compartimiento interno de mayor tamaño (la matriz en las mitocondrias y la estroma en los cloroplastos). El espacio tilacoide está completamente cerrado, aislado del resto de la célula. ¿Por qué la organización de los cloroplastos permite un gradiente mayor de H^+ del que puede ser obtenido en las mitocondrias?

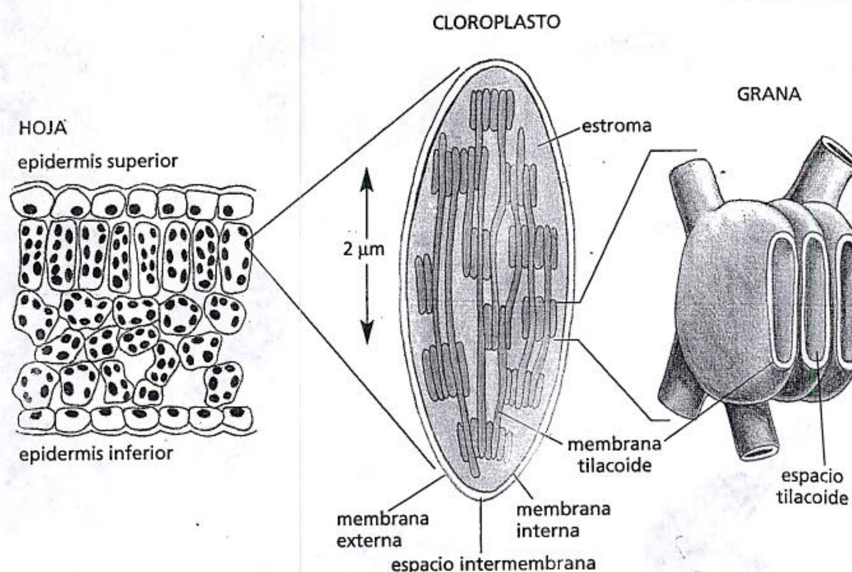
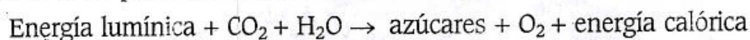


Figura 14-26. El cloroplasto contiene un tercer compartimiento interno. Este orgánulo fotosintético contiene tres membranas (la membrana externa, la membrana interna y la membrana tilacoide) que definen tres compartimientos internos bien definidos (el espacio intermembrana, la estroma y el espacio tilacoide). En la membrana tilacoide se hallan los sistemas generadores de energía del cloroplasto, incluida su clorofila que captura la luz. En las microfotografías electrónicas esta membrana aparece fragmentada en unidades separadas que envuelven a vesículas aplanadas individuales (véase Fig. 14-25C), pero probablemente las vesículas se unan en cada cloroplasto en una membrana única, sumamente plegada. Como se indica, los tilacoides están interconectados y tienden a agruparse formando pilas que constituyen las granas.

Los cloroplastos capturan la energía de la luz solar y la usan en la fijación de carbono

Como se analizó en el capítulo 3, la ecuación global que resume el resultado neto de la fotosíntesis puede escribirse como:



$$\text{Energía lumínica} + CO_2 + H_2O \rightarrow \text{azúcares} + O_2 + \text{energía calórica}$$

Si bien la ecuación es bastante simple, las reacciones que permiten que suceda el proceso son bastante elaboradas. Sin embargo, en términos generales, las numerosas reacciones que producen la fotosíntesis en las plantas suceden en dos etapas (véase Fig. 3-8):

1. En la primera etapa, que depende de la luz, la energía proveniente de la luz solar es capturada y almacenada transitoriamente en los enlaces de alta energía del ATP y la molécula transportadora activada, el NADPH. Estas reacciones fotosintéticas de transferencia de electrones, también llamadas "reacciones lumínicas" se producen en su totalidad dentro de la membrana tilacoide del cloroplasto. En esta serie de reacciones, la energía proveniente de la luz solar activa a un electrón en el pigmento orgánico verde clorofila, que posibilita que éste se desplace a lo largo de la cadena de transporte de electrones en la membrana tilacoide de una manera bastante similar a la transferencia de electrones a lo largo de la cadena respiratoria en las mitocondrias. El electrón que la clorofila dona a la cadena de transporte de electrones es por fin sustituido por un electrón extraído del agua. Este electrón

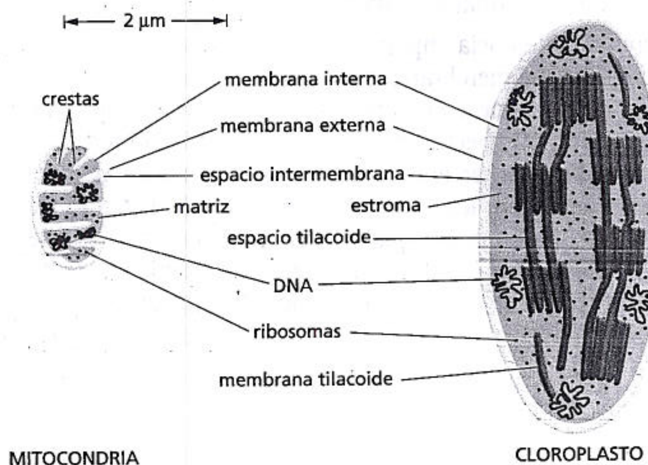


Figura 14-27. Comparados con las mitocondrias, los cloroplastos son más grandes y tienen un compartimiento adicional. Un cloroplasto contiene, además de las membranas interna y externa, la membrana tilacoide que limita el espacio tilacoide. En la membrana tilacoide se hallan los sistemas de captación de la luz, las cadenas de transporte de electrones y la ATP sintasa. A diferencia de la membrana interna del cloroplasto, la membrana mitocondrial interna está plegada formando crestas que incrementan el área de su superficie. Ambos orgánulos contienen su propio genoma y sistema genético. Por lo tanto, la estroma, a semejanza de la matriz mitocondrial, también contiene un conjunto especial de ribosomas, RNA y DNA (*rojo*).

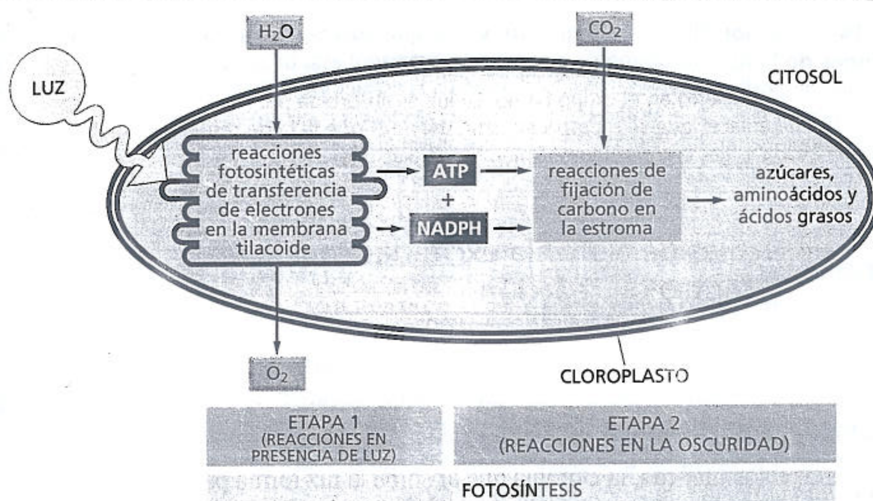


Figura 14-28. Las dos etapas de la fotosíntesis se realizan en el cloroplasto. El agua se oxida y se libera oxígeno en las reacciones fotosintéticas de transferencia de electrones que producen ATP y NADPH (etapa 1), mientras que el dióxido de carbono se asimila (se fija) y produce azúcares y una variedad de otras moléculas orgánicas en las reacciones de fijación de carbono (etapa 2). La etapa 2 comienza en la estroma del cloroplasto y continúa en el citosol.

móvil escinde una molécula de agua (H_2O) y se forma O_2 como un subproducto. Durante el proceso de transporte de electrones el H+ es bombeado a través de la membrana tilacoide, y el gradiente electroquímico de protones resultante estimula la síntesis del ATP en la estroma. Como paso final en esta serie de reacciones, los electrones de alta energía son cargados (junto con el H+) en el NADP+, que se transforma en NADPH (Fig. 14-28).

2. En la segunda etapa de la fotosíntesis, independiente de la luz, el ATP y el NADPH producidos por las reacciones fotosintéticas de transferencia de electrones son aprovechados como fuente de energía y de poder reductor, respectivamente, en la transformación del CO_2 en carbohidratos (véase Fig. 14-28). Estas reacciones de fijación de carbono, también denominadas "reacciones en la oscuridad", comienzan en la estroma del cloroplasto y continúan en el citosol de la célula vegetal. Producen sacarosa y otras moléculas orgánicas en las hojas de las plantas. La sacarosa se exporta a otros tejidos tanto como fuente de energía como de moléculas orgánicas para el crecimiento.

De esta manera, la formación de ATP, NADH y O_2 (que requiere directamente la energía lumínica) y la conversión de CO_2 en hidratos de carbono (que requiere sólo en forma indirecta la energía lumínica) son procesos independientes, aunque mecanismos de retroalimentación complejos que interconectan los dos conjuntos de reacciones. Varias de las enzimas del cloroplasto necesarias para la fijación de carbono, por ejemplo, son inactivadas en la oscuridad y reactivadas por los procesos de transporte de electrones estimulados por la luz.

La luz visible es absorbida por moléculas de clorofila

La luz visible es una forma de radiación electromagnética compuesta por diferentes longitudes de onda, que varía desde el violeta (longitud de onda de 400 nm) hasta el rojo intenso (700 nm). Cuando consideramos procesos en el nivel de una molécula aislada, como la absorción de la luz por una molécula de clorofila, tenemos que imaginar a la luz como compuesta por corpúsculos de energía denominados *fotones*. La luz de diferentes colores se distingue por fotones de distinta energía, en los que la longitud de onda más larga corresponde a una energía menor. Por lo tanto, los fotones de la luz roja tienen menor energía que los fotones de la luz verde.

Cuando la luz solar es absorbida por una molécula de **clorofila**, los electrones interactúan en esta molécula con los fotones de la luz y ascienden a un nivel energético más elevado. Los electrones en la extensa red en la que alternan los enlaces simples y dobles de la molécula de clorofila (Fig. 14-29) absorben la luz roja con mayor intensidad, razón por la que la clorofila aparece verde a nuestros ojos.

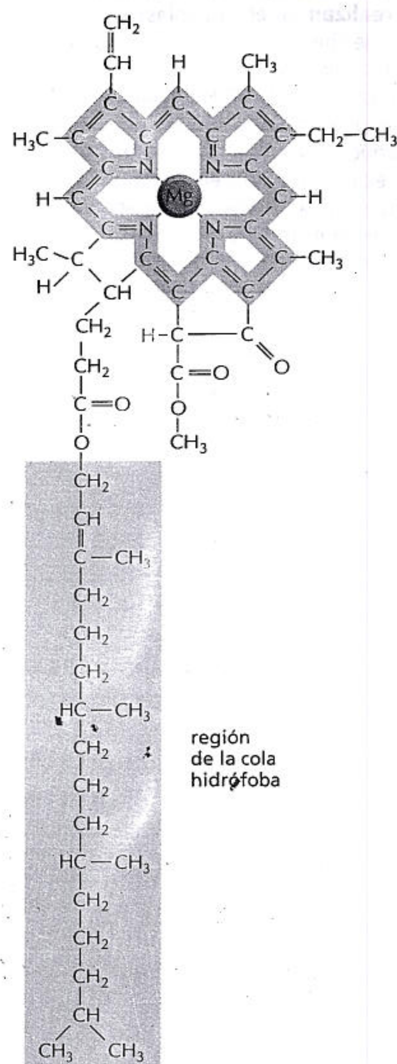


Figura 14-29. La clorofila es un pigmento verde que absorbe energía de los fotones de la luz. Un átomo de magnesio (*anaranjado*) está unido al centro de un anillo de porfirina, que es similar en cuanto a la estructura al anillo de porfirina que fija el hierro en el grupo hemo. La luz es absorbida por los electrones en la red de enlaces que se muestra en *azul*, mientras que la larga cola hidrófoba (*verde*) ayuda a fijar la clorofila en la membrana tilacoide.

Las moléculas de clorofila excitadas canalizan la energía hacia un centro de reacción

Una molécula aislada de clorofila es incapaz de convertir la luz que absorbe en alguna forma de energía que sea útil para los organismos vivos. Puede hacerlo sólo cuando está asociada con las proteínas apropiadas y localizada en una membrana. En las membranas tilacoides de los vegetales y en las membranas de las bacterias fotosintéticas, la clorofila que absorbe la luz forma parte de grandes complejos multiproteicos que se denominan **fotosistemas**. Cada fotosistema consta de un **complejo antena**, que captura la energía lumínica, y un **centro de reacción**, que permite que la energía lumínica se convierta en energía química. La porción antena de un fotosistema consta de cientos de moléculas de clorofila que capturan la energía lumínica en forma de electrones excitados (de alta energía). Estas moléculas de clorofila se distribuyen de modo que la energía de un electrón excitado puede ser transferida de una molécula a la otra hasta que, por último, la energía es canalizada hacia dos moléculas de clorofila denominadas *par especial* (Fig. 14-30). Estas dos moléculas de clorofila se localizan en el centro de reacción, un complejo proteico adyacente al complejo antena ubicado en la membrana donde la energía es atrapada y excita a un electrón en el par especial de moléculas de clorofila.

El centro de reacción es un complejo transmembrana de proteínas y pigmentos orgánicos que constituye el corazón de la fotosíntesis. Se piensa que se desarrolló hace más de 3.500 millones de años en las bacterias fotosintéticas primitivas. Estudios estructurales y funcionales minuciosos revelan cómo funciona en el nivel atómico (Película 14.6). El centro de reacción actúa como una trampa irreversible para un electrón excitado, ya que estas moléculas de clorofila transfieren un electrón de alta energía a una molécula vecina localizada precisamente en el mismo complejo proteico. Al alejar el electrón excitado rápidamente de las moléculas de clorofila, un proceso conocido como *separación de cargas*, el centro de reacción transfiere este electrón de alta energía a un entorno donde es mucho más estable.

Cuando la molécula de clorofila en el centro de reacción pierde un electrón, adquiere una carga positiva; esta molécula recupera rápidamente un electrón de un

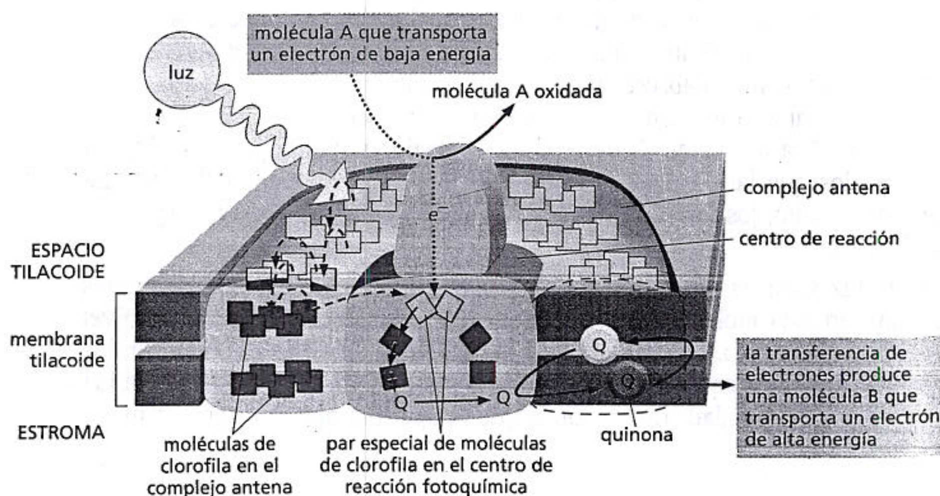


Figura 14-30. El fotosistema contiene un centro de reacción y una antena. La antena recoge la energía de los electrones que fueron excitados por la luz y la canaliza hacia un par especial de moléculas de clorofila en el centro de reacción. Esto produce un electrón de alta energía en el par especial que pasa con rapidez (la transferencia del electrón se muestra como una flecha roja sólida) a la cadena de transporte de electrones de la membrana tilacoide, por medio de la quinona (Q). Además de la clorofila, la antena contiene otros pigmentos accesorios (no mostrados) que ayudan a capturar la energía lumínica de diferentes longitudes de onda. Una proteína en el centro de reacción (*anaranjado*) reúne los electrones de baja energía necesarios para que el sistema regrese a su estado no excitado original (la transferencia de electrones se muestra como flechas *rojas* interrumpidas), como se verá en la figura 14-31.

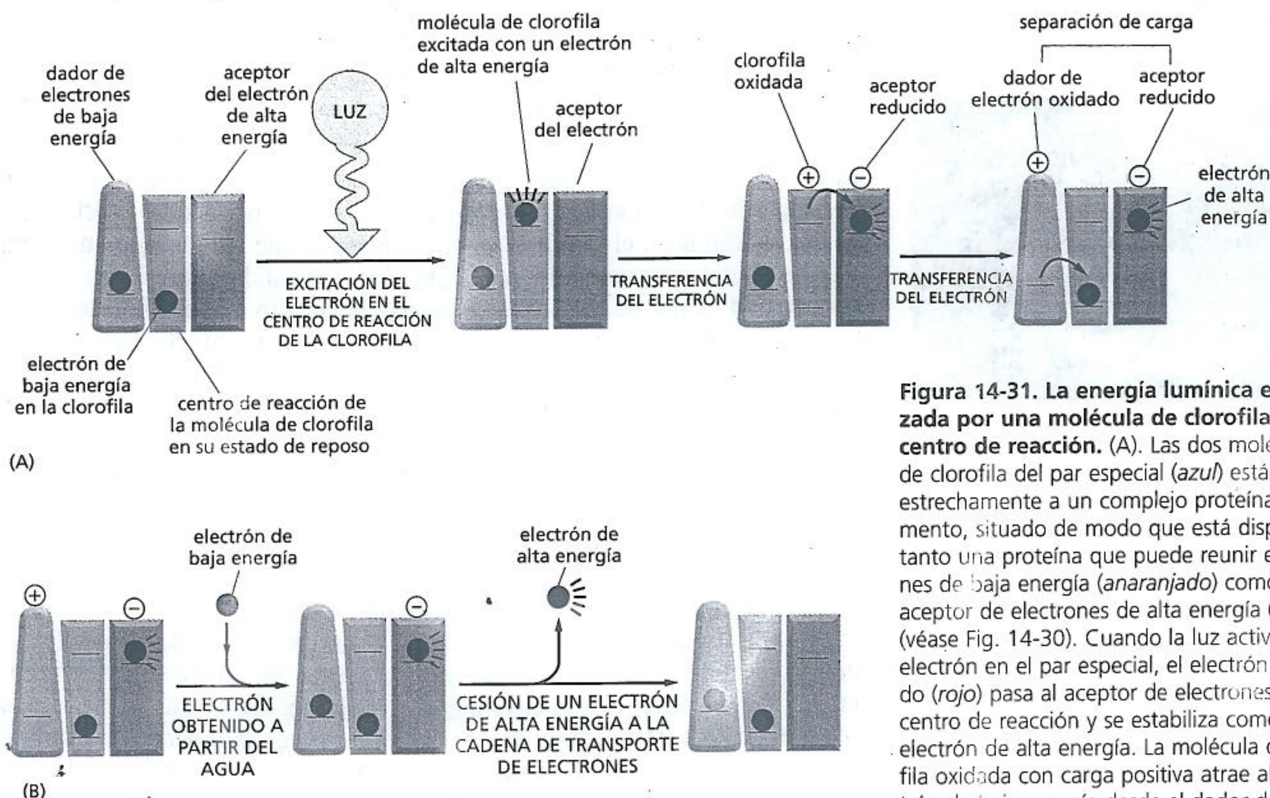


Figura 14-31. La energía lumínica es utilizada por una molécula de clorofila en el centro de reacción. (A). Las dos moléculas de clorofila del par especial (*azul*) están unidos estrechamente a un complejo proteína-pigmento, situado de modo que está disponible tanto una proteína que puede reunir electrones de baja energía (*anaranjado*) como un aceptor de electrones de alta energía (*verde*) (véase Fig. 14-30). Cuando la luz activa un electrón en el par especial, el electrón excitado (*rojo*) pasa al aceptor de electrones en el centro de reacción y se estabiliza como un electrón de alta energía. La molécula de clorofila oxidada con carga positiva atrae al electrón de baja energía desde el dador de electrón y recupera su estado de reposo. Estas reacciones demandan menos de 10^{-6} segundos para completarse. (B). En la etapa final del proceso, que sigue los pasos descritos en (A), se restablece el centro de reacción a su estado original mediante la salida de un nuevo electrón de baja energía (a partir del agua en este caso) y la transferencia de su electrón de alta energía a la cadena de transporte de electrones. Por lo tanto, en la reacción global se consumen electrones de baja energía obtenidos del agua y se producen electrones de alta energía en la membrana tilacoide vegetal.

donante de electrones adyacente volviendo a su estado no excitado, sin carga (Fig. 14-31A). A continuación, en reacciones más lentas, el dador de electrones reemplaza el electrón que cede por otro electrón proveniente del agua. El electrón de alta energía generado por la clorofila excitada se transfiere entonces a la cadena de transporte de electrones. Esta transferencia deja al centro de reacción listo para recibir el próximo electrón de alta energía excitado por la luz solar (Fig. 14-31B).

La energía lumínica dirige la síntesis de ATP y NADPH

En las mitocondrias, la cadena de transporte de electrones genera sólo ATP. Pero, en los cloroplastos y en los organismos fotosintéticos de vida libre, como las cianobacterias, el transporte de electrones tiene una función adicional: también produce la molécula transportadora activada NADPH (véase Fig. 3-34). El NADPH es necesario porque la fotosíntesis es, en última instancia, un proceso biosintético. Para sintetizar moléculas orgánicas a partir del CO_2, la célula necesita un ingreso enorme de energía en la forma de ATP y una cantidad muy grande de poder reductor en la forma de NADPH. En la producción de NADPH a partir del $NADP^+$ se utiliza la energía capturada de la luz solar que transforma los electrones de baja energía del agua en electrones de alta energía en el NADPH.

La fotosíntesis en las plantas y cianobacterias genera ATP y NADPH por un proceso que requiere dos fotones de luz. El ATP se produce una vez que se absorbe el primer fotón y el NADPH después de la absorción del segundo. Para realizar estas reacciones, dos fotosistemas diferentes trabajan en serie. En conjunto, ambos le confieren a un electrón suficiente energía como para producir NADPH. A lo largo de esta vía, se genera también un gradiente de protones, lo cual hace posible que se forme ATP.

A grandes rasgos, la energía de la luz es absorbida inicialmente por un fotosistema (denominado paradójicamente fotosistema II por razones históricas) que produce un electrón de alta energía que pasa a través de una cadena de transporte de electrones (véase Fig. 14-31). Mientras se desplaza a lo largo de la cadena, el

electrón estimula a una bomba de H+ en la membrana tilacoide y crea un gradiente de protones como ya se describió para la fosforilación oxidativa. Una ATP sintasa en la membrana tilacoide utiliza luego este gradiente y desencadena la síntesis de ATP en el lado de la membrana adyacente a la estroma (Fig. 14-32).

PREGUNTA 14-9

Tanto el NADPH como la molécula transportadora relacionada NADH son dadores fuertes de electrones. ¿Cómo podrían haber evolucionado las células vegetales para depender del NADPH, en lugar del NADH, que proporciona el poder reductor en la fotosíntesis?

Entretanto, la cadena de transporte de electrones cede el electrón generado por el fotosistema II al segundo fotosistema en la vía (denominado fotosistema I). Allí, el electrón llena el "agujero" de carga positiva que ha quedado en el centro de reacción del fotosistema I cuando absorbe el segundo fotón de luz. Como el fotosistema I comienza a un nivel energético más alto que el fotosistema II, es capaz de impulsar los electrones a un nivel de energía muy elevado como para producir NADPH a partir de NADP+ (véase Fig. 14-32). En la figura 14-33 se muestran los potenciales redox de los componentes de la cadena de transporte de electrones.

En el proceso total descrito hasta ahora, un electrón que es eliminado de una molécula de clorofila en el centro de reacción del fotosistema II pasa a través de la cadena de transporte de electrones de la membrana tilacoide hasta que cambia de dirección y es donado al NADPH. Ese electrón inicial debe ser reemplazado para que el sistema recupere su estado no excitado. El electrón de reemplazo proviene de un dador de electrones de baja energía, que en los vegetales y en muchas bacterias fotosintéticas es el agua (véase Fig. 14-31B). El centro de reacción del fotosistema II incluye una enzima hidrolítica que desdobla el agua y capta los átomos de oxígeno de dos moléculas de agua unidas a un centro de átomos de manganeso de la proteína (Fig.14-34; véase también Fig. 14-32). Esta enzima elimina los electrones del agua de a uno por vez llenando los agujeros creados por la luz en las moléculas de clorofila del centro de reacción. Cuando se separan cuatro electrones eliminados de las dos moléculas de agua (lo cual requiere cuatro fotones de luz), se libera O_2. Este proceso fundamental, que se produce desde hace más de mil millones de años, generó todo el O_2 que existe en la atmósfera terrestre.

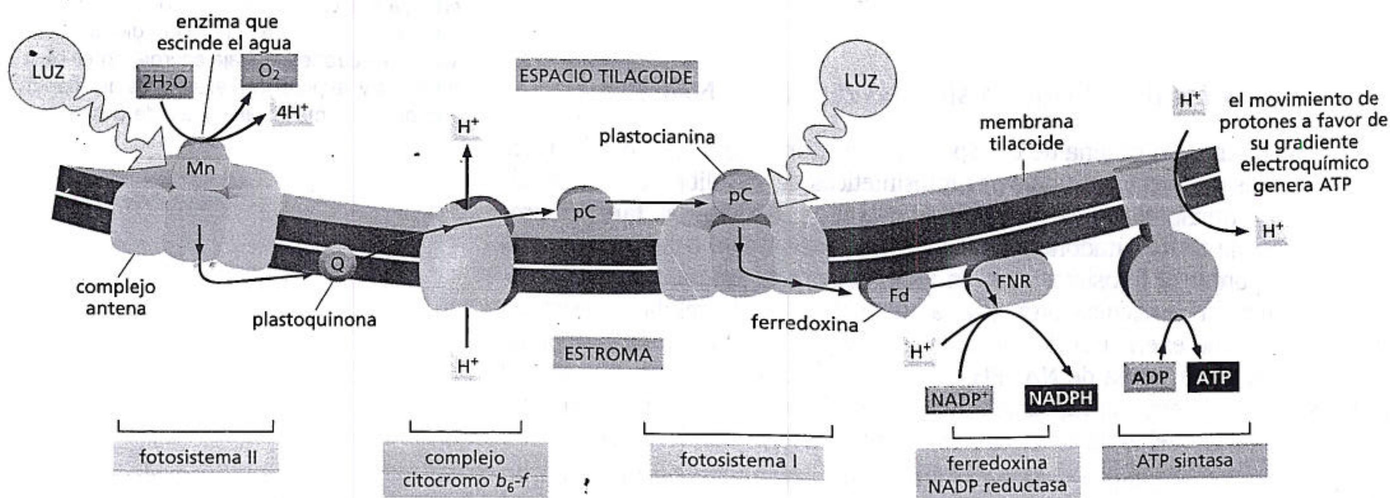


Figura 14-32. Durante la fotosíntesis los electrones se desplazan por la cadena de transporte de electrones de la membrana tilacoide. La energía lumínica es captada por los complejos antena de cada uno de los fotosistemas localizados en la membrana y canalizada a un par especial de moléculas de clorofila en el centro de reacción. Como se ilustró en la figura 14-30, se crea un electrón de alta energía excitado en el par especial, que es transferido a través de una serie de aceptores de electrones dentro del centro de reacción antes de transferirse a la cadena de transporte de electrones en la membrana del cloroplasto. Los transportadores móviles de electrones en la cadena de transporte de electrones del cloroplasto son la plastoquinona (que se parece mucho a la ubiquinona de las mitocondrias), la plastocianina (pC, una proteína pequeña que contiene cobre) y la ferredoxina (Fd, una proteína pequeña que contiene un centro de hierro y azufre). El complejo citocromo b_6-f se parece al citocromo b-c_1 de las mitocondrias, y es el único sitio de bombeo activo de H+ en la cadena de transporte de electrones del cloroplasto. El H+ liberado por la escisión del agua por el fotosistema II y el H+ captado durante la formación de NADPH por la proteína ferredoxina-NADP reductasa (FNR), la última proteína de la cadena de transporte de electrones, también contribuyen a generar el gradiente electroquímico de protones. Como se indicó, el gradiente de protones activa a la ATP sintasa localizada en la misma membrana para generar el ATP. En la Película 14.7 se muestra una perspectiva general de las reacciones fotosintéticas.

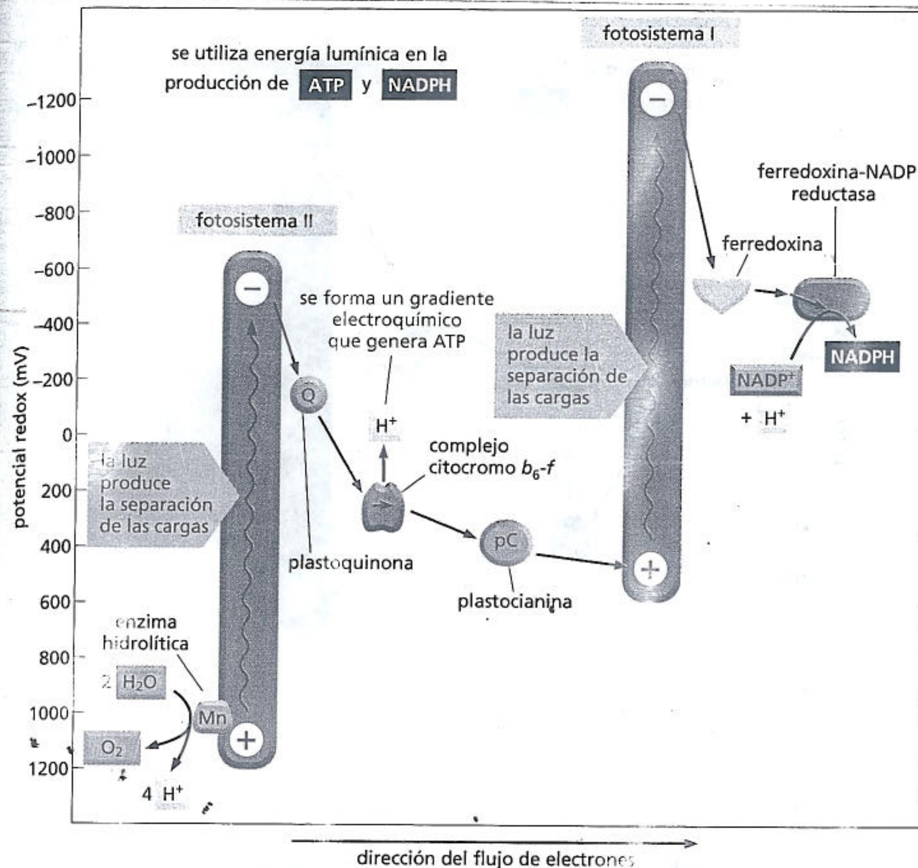
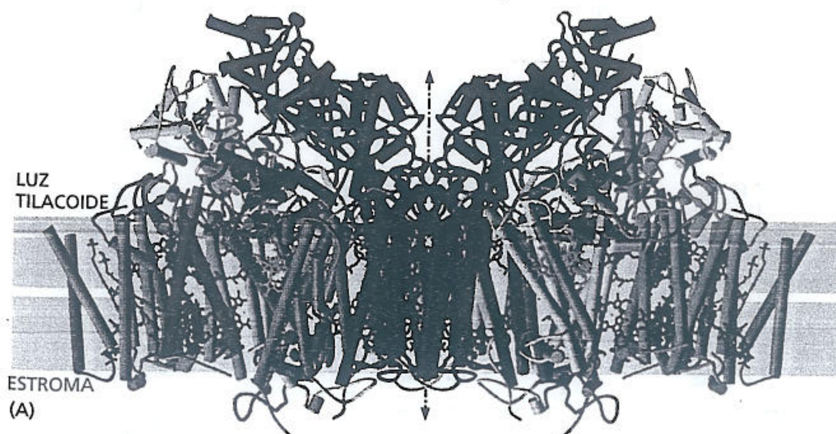


Figura 14-33. El acoplamiento de los fotosistemas I y II impulsan electrones al nivel de energía necesario en la producción de NADPH. El potencial redox para cada molécula se indica por su posición en el eje vertical. El fotosistema II cede electrones desde el par especial de la clorofila excitada por medio de una cadena de transporte de electrones en la membrana tilacoide que conduce al fotosistema I. El flujo de electrones neto a través de los dos fotosistemas unidos en serie va desde el agua hasta el NADP+ y produce NADPH, como también ATP. El ATP es sintetizado por la ATP sintasa (no se muestra en la figura) que aprovecha el gradiente electroquímico de protones generado por el transporte de electrones.

Los cloroplastos pueden ajustar su producción de ATP

Además de realizar el proceso fotosintético, los cloroplastos también pueden generar ATP sin formar NADPH. En la producción de este ATP extra, los cloroplastos pueden transformar los procesos del fotosistema I en una forma cíclica, de modo que produce ATP en lugar de NADPH. En este proceso, denominado **fotofosforilación cíclica**, los electrones de alta energía producidos por activación lumínica del fotosistema I se transfieren de nuevo al complejo citocromo b_6-f en lugar de hacerlo al NADP+. Desde el complejo citocromo b_6-f los electrones son devueltos al fotosistema I en un nivel de baja energía (Fig. 14-35). El resultado neto, además de la conversión de parte de la energía lumínica en calor, es que el H+ es bombeado a través de la membrana tilacoide por el complejo citocromo b_6-f a medida que los electrones se desplazan a través de él. Este ciclo aumenta el gradiente electroquímico de protones que impulsa la síntesis de ATP. Las células ajustan las cantidades relativas de la fotofosforilación cíclica (que comprende sólo al fotosistema I) y la forma habitual, no cíclica de la fotofosforilación (que abarca los dos



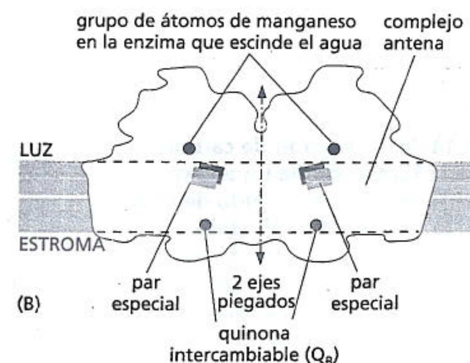


Figura 14-34. Se conocen las estructuras tridimensionales completas de los fotosistemas I y II. En el esquema se muestra la estructura del fotosistema II, que es un complejo dimérico que contiene más de 20 proteínas y varias docenas de clorofilas. (Adaptado de K. M. Ferreira et al., *Science* 303: 1831-1838, 2004. Con autorización de la AAAS).

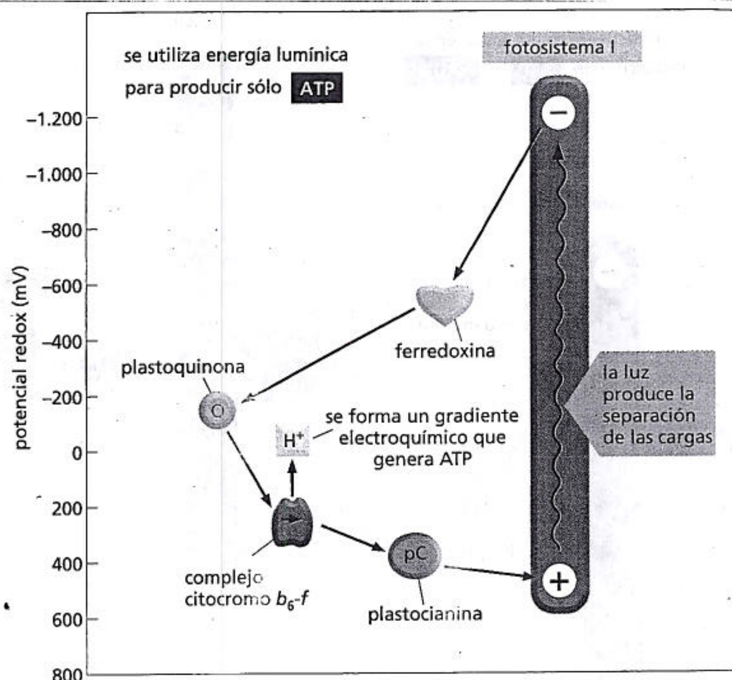


Figura 14-35. Los cloroplastos también pueden producir ATP mediante la fosforilación cíclica. Esta vía metabólica permite que se forme ATP sin producir NADPH u O_2. Cuando se acumula NADPH la célula tiende a favorecer este esquema cíclico.

fotosistemas, I y II) de acuerdo con su necesidad relativa de fuerza reductora (en la forma de NADPH) y enlaces de fosfatos de alta energía (en la forma de ATP).

La fijación de carbono utiliza ATP y NADPH en la conversión de CO_2 en azúcares

Las reacciones lumínicas de la fotosíntesis generan ATP y NADPH en la estroma del cloroplasto. Pero, la membrana interna del cloroplasto es impermeable a estos dos compuestos, lo que significa que no pueden ser exportados directamente al citosol. El poder reductor y la energía (el NADPH y el ATP) necesarias para el resto de la célula, se utilizan, en cambio, dentro de la estroma del cloroplasto y así producen azúcares que pueden exportarse directamente. Esta producción de azúcares, que sucede durante las reacciones en la oscuridad de la fotosíntesis, se denomina **fijación de carbono**.

La reacción central de la fijación fotosintética del carbono, en la que un átomo de carbono inorgánico (como CO_2) se transforma en carbono orgánico, se ilustra en la **figura 14-36**. El CO_2 atmosférico se combina con un derivado de un azúcar de cinco carbonos, la *ribulosa 1,5-bifosfato*, más agua y produce dos moléculas del compuesto 3-fosfoglicerato de tres carbonos. Esta reacción de fijación de carbono, que fue descubierta en 1948, está catalizada en la estroma del cloroplasto por una enzima de gran tamaño: la *ribulosa bifosfato carboxilasa* (también llamada *ribulosa bifosfato carboxilasa/oxigenasa* o *rubisco*). Como esta enzima actúa a una

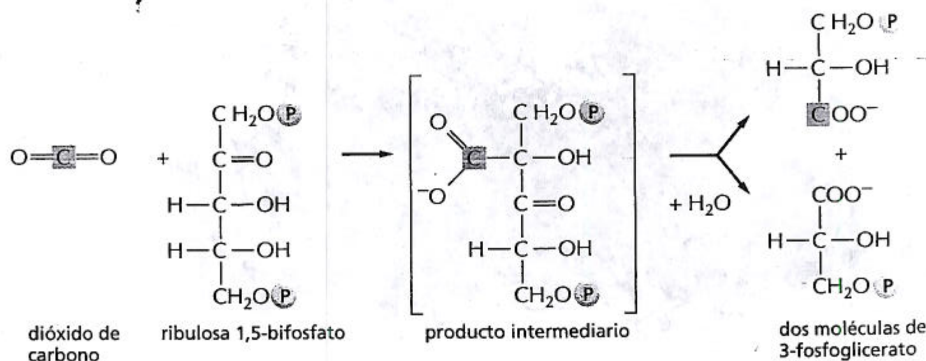


Figura 14-36. La fijación de carbono implica la formación de un enlace covalente que une el dióxido de carbono con la ribulosa 1,5-bifosfato. La reacción es catalizada en la estroma del cloroplasto por una enzima muy abundante, la ribulosa bifosfato carboxilasa. Como se muestra, el producto son dos moléculas de 3-fosfoglicerato.

velocidad extremadamente lenta en comparación con la mayoría de las otras enzimas (procesa alrededor de tres moléculas de sustrato por segundo, frente a las 1.000 moléculas por segundo de una enzima típica), la planta necesita muchas moléculas de la enzima. La ribulosa bifosfato carboxilasa a menudo representa más del 50% del total de proteínas del cloroplasto, y se considera que es la proteína más abundante de la Tierra.

Cuando los hidratos de carbono se degradan y oxidan a CO_2 y H_2O se libera gran cantidad de energía. Claramente, la reacción global inversa, en la que se combinan el CO_2 y el H_2O formando un hidrato de carbono, debe ser en consecuencia muy desfavorable desde el punto de vista energético. Para que se cumpla este proceso debe estar acoplada a una reacción energéticamente favorable que la impulse. La reacción en la que el CO_2 se fija por la rubisco es, en efecto, energéticamente favorable, pero sólo porque recibe un aporte continuo del compuesto ribulosa 1,5-bifosfato con alto contenido de energía, al que se agrega cada molécula de CO_2 (véase Fig. 14-36). La energía y el poder reductor necesario para elaborar la vía metabólica por la que se regenera este compuesto están provistos por el ATP y el NADPH producidos por las reacciones fotosintéticas lumínicas.

La serie de reacciones que le permite a la célula incorporar CO_2 en azúcares forma un ciclo que comienza y termina con ribulosa 1,5-bifosfato (Fig. 14-37). Por cada tres moléculas de CO_2 que entran en el ciclo se produce una nueva molécula de *gliceraldehído 3-fosfato*, el azúcar de tres carbonos que es el producto neto del ciclo, y se consumen tres moléculas de ATP y dos moléculas de NADPH. El gliceraldehído 3-fosfato proporciona el material inicial para la síntesis de muchos otros azúcares y moléculas orgánicas. El *ciclo de fijación de carbono* (o ciclo de Calvin) representa una de las primeras aplicaciones con éxito de los radioisótopos como marcadores en bioquímica en las décadas de 1940 y 1950.

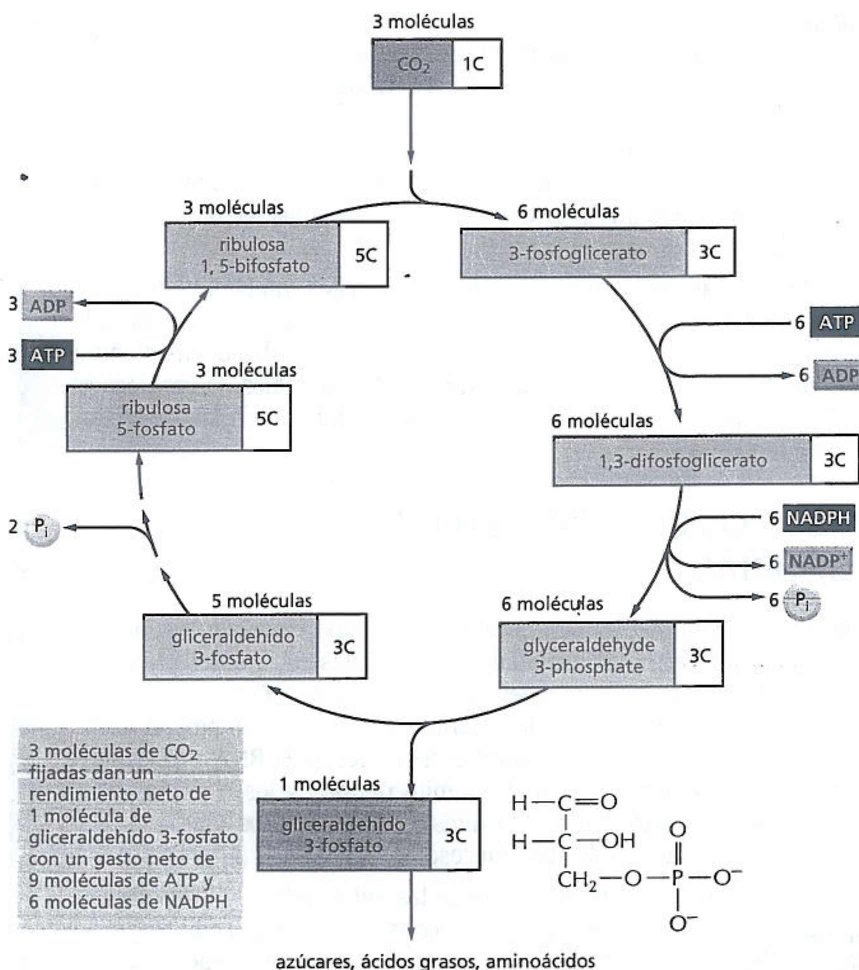


Figura 14-37. El ciclo de fijación de carbono forma moléculas orgánicas a partir del CO_2 y del H_2O. El ciclo comienza con la reacción que se muestra en la figura 14-36 y produce gliceraldehído 3-fosfato. El número de átomos de carbono en cada tipo de molécula se indica en un *recuadro blanco*. Hay muchos productos intermediarios entre el gliceraldehído 3-fosfato y la ribulosa 5-fosfato, pero para mayor claridad han sido omitidos en este esquema. Tampoco se muestra la entrada de agua en el ciclo.

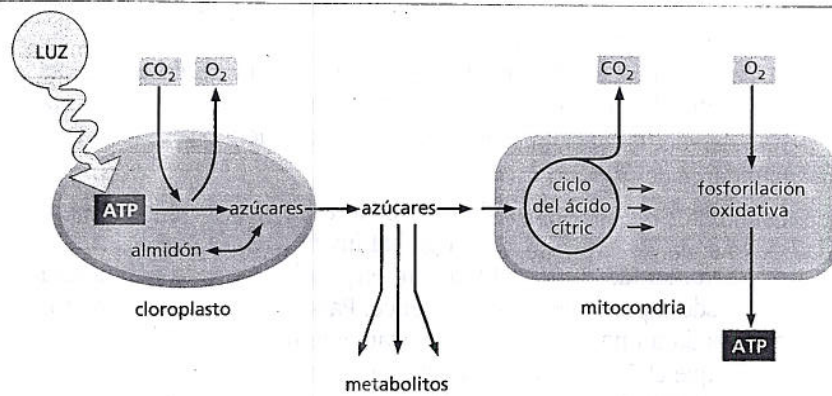


Figura 14-38. En las plantas, los cloroplastos y las mitocondrias, colaboran para abastecer a la célula de metabolitos y ATP. La membrana interna de los cloroplastos es impermeable al ATP y al NADPH, producidos durante las reacciones lumínicas de la fotosíntesis. En consecuencia, estas moléculas son canalizadas al ciclo de fijación de carbono donde son utilizadas en la formación de azúcares. Los azúcares resultantes se almacenan dentro de los cloroplastos, en la forma de almidón, o se exportan al resto de la célula vegetal. Allí, ellas pueden ingresar a la vía generadora de energía que finaliza en la síntesis de ATP en las mitocondrias. Las membranas mitocondriales son permeables al ATP, como se indica.

Los azúcares generados por la fijación de carbono pueden ser almacenados como almidón o consumidos liberando ATP

La mayor parte del gliceraldehído 3-fosfato generado por fijación de carbono en los cloroplastos puede usarse de diferentes maneras, según las necesidades de la planta. Durante los períodos de excesiva actividad fotosintética el gliceraldehído 3-fosfato es retenido en el cloroplasto, donde se convierte sobre todo en almidón en la estroma (Fig. 14-38). Al igual que el glucógeno en las células animales, el almidón es un polímero de la glucosa de gran tamaño molecular que es una reserva de hidratos de carbono y se almacena en forma de granos voluminosos en la estroma del cloroplasto (véase Fig. 14-25B). Durante la noche, el almidón se degrada a azúcares más simples que ayudan a satisfacer las necesidades metabólicas de la planta. El almidón es una parte importante de la dieta de todos los animales herbívoros.

Pero los cloroplastos no son sólo un depósito de reserva. Gran parte del gliceraldehído 3-fosfato producido en ellos se moviliza al citosol celular. Parte ingresa a la vía glucolítica (véase Fig. 13-5) donde se convierte en piruvato, que ingresa al ciclo del ácido cítrico en las mitocondrias de la célula vegetal y conduce a la producción de ATP mediante la fosforilación oxidativa (véase Fig. 14-38). Este es el ATP que la planta utiliza para su metabolismo general y se sintetiza en las mitocondrias de modo similar a lo que sucede en las células animales y otros organismos no fotosintéticos.

El gliceraldehído 3-fosfato exportado desde los cloroplastos también se transforma en muchos otros metabolitos, como el disacárido sacarosa. La sacarosa es la forma principal en la que el azúcar se transporta entre las células de las plantas: así como la glucosa es vehiculizada en la sangre de los animales, la sacarosa es exportada desde las hojas a través de los vasos proporcionando hidratos de carbono al resto de la planta.

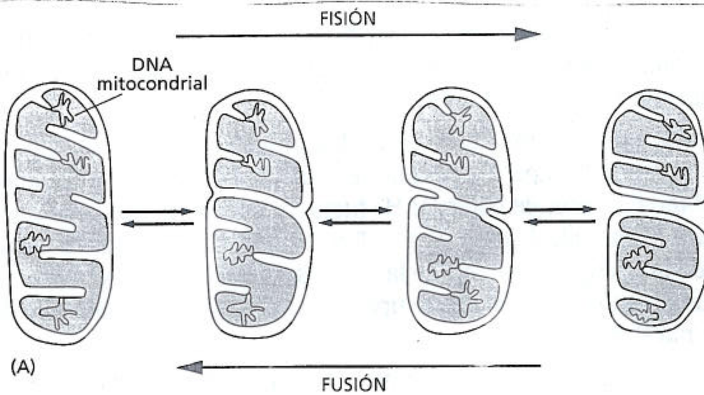
PREGUNTA 14-10

A. ¿Cómo sobreviven las células en las raíces de las plantas si no tienen cloroplastos y no están expuestas a la luz?
B. A diferencia de las mitocondrias, los cloroplastos no tienen transportadores que les permitan exportar el ATP hacia el citosol. ¿Cómo pueden las células de las plantas obtener el ATP que necesitan para llevar a cabo las reacciones metabólicas que requieren energía en el citosol?

ORIGEN DE LOS CLOROPLASTOS Y LAS MITOCONDRIAS

En la actualidad se acepta que los cloroplastos y las mitocondrias evolucionaron a partir de bacterias que fueron endocitadas por las células eucariontes primitivas hace más de mil millones de años (véanse Figs. 1-19 y 1-21). Como una reliquia de este pasado evolutivo, ambos tipos de orgánulos conservan sus propios genomas y también su propia maquinaria biosintética que forma el RNA y las proteínas de los orgánulos. La manera en que las mitocondrias y los cloroplastos se reproducen –mediante el crecimiento y la división de orgánulos preexistentes– proporciona otros indicios acerca de sus antecesores bacterianos (Fig. 14-39).

Sin embargo, el crecimiento y la proliferación de las mitocondrias y los cloroplastos es complicado, porque las proteínas que los constituyen están codificadas por dos sistemas genéticos separados, uno en el orgánulo y otro en el núcleo celular.



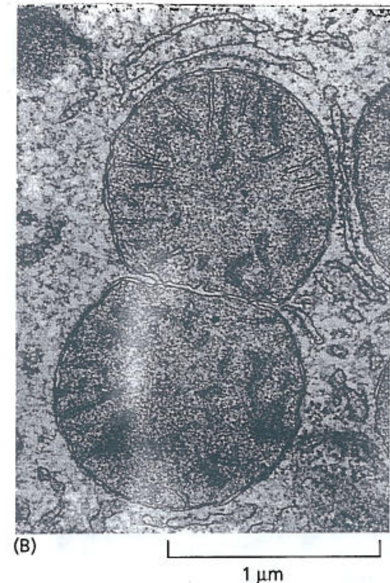


Figura 14-39. La mitocondria se divide como una bacteria. (A). Se han observado en las mitocondrias tanto la fisión como la fusión. El proceso de fisión es conceptualmente similar al de división bacteriana. (B). Microfotografía electrónica de una mitocondria en división en una célula hepática. (B, cortesía de Daniel S. Friend).

En el caso de la mitocondria, la mayoría de los genes bacterianos originales se trasladaron al núcleo celular y quedaron relativamente pocos genes dentro del orgánulo. En efecto, las mitocondrias animales contienen un sistema genético simple y único: el genoma de la mitocondria humana, por ejemplo, consta solamente de 16.569 pares de nucleótidos de DNA que codifican 37 genes. En cambio, casi todas las proteínas mitocondriales –incluso las necesarias para producir la RNA polimerasa mitocondrial y las proteínas ribosómicas, y todas las enzimas del ciclo del ácido cítrico– están regidas por genes nucleares, por lo tanto, una vez formadas, deben pasar al interior de la mitocondria desde el citosol, donde se las sintetiza (esto se explica en el capítulo 15).

Al igual que la mitocondria, el cloroplasto contiene muchos de sus propios genes, como también un sistema completo de transcripción y traducción que produce proteínas a partir de ellos. Los genomas de los cloroplastos son considerablemente mayores que los de las mitocondrias. En las plantas superiores, por ejemplo, el genoma del cloroplasto contiene cerca de 120 genes en 120.000 pares de nucleótidos. Estos genes son muy similares a los de las cianobacterias, las bacterias fotosintéticas de las que presumiblemente derivan los cloroplastos. Aun así, muchas proteínas de los cloroplastos actualmente son codificadas por genes nucleares y deben ser importadas desde el citosol.

Las mismas técnicas que permitieron analizar los genomas de las mitocondrias y los cloroplastos hicieron posible también identificar y explorar la biología molecular de muchos microorganismos de la Tierra. Algunos de ellos proliferan en los hábitats más inhóspitos del planeta, como fuentes termales sulfurosas o respiraderos hidrotermales en la profundidad del océano. En estos modernos microbios aparentemente extraños, se pueden encontrar indicios sencillos de la historia de la vida en la forma de las moléculas de las que están constituidos. Como las huellas digitales que se dejan en la escena de un crimen, estas moléculas suministran pruebas sólidas que permiten conocer la historia de antiguos procesos y permiten especular acerca del origen de los sistemas generadores de ATP que se encuentran en las mitocondrias y los cloroplastos actuales. Por consiguiente, terminamos este capítulo con una descripción dedicada a la evolución de los sistemas que almacenan energía analizados antes.

La fosforilación oxidativa les otorgó a las bacterias primitivas una ventaja evolutiva

Como ya se mencionó, las primeras células vivas de la Tierra –tanto procariontes como eucariontes primitivas– consumían sobre todo moléculas orgánicas producidas de modo geoquímico y generaban ATP por fermentación. Como el oxígeno

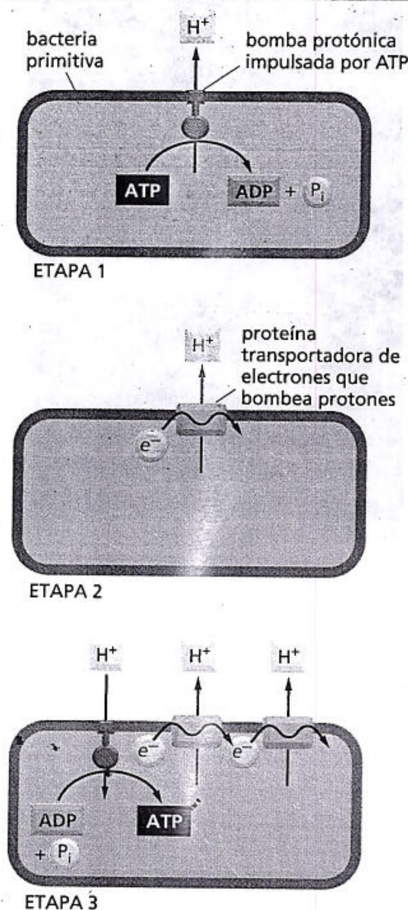


Figura 14-40. La fosforilación oxidativa podría haberse desarrollado por etapas. La primera podría haber implicado la evolución de una ATPasa que bombeara protones fuera de la célula con la energía producida por la hidrólisis del ATP; la segunda etapa podría haber implicado la evolución de una bomba de protones impulsada por una cadena transportadora de electrones; la tercera etapa podría ser el resultado de la unión de estos dos sistemas que genera ATP sintasa, que usa los protones bombeados por la cadena de transporte de electrones en la síntesis de ATP. Una bacteria con este sistema final debería haber tenido una ventaja selectiva respecto de las bacterias con sólo uno o ninguno de los sistemas.

todavía no estaba presente en la atmósfera, estas reacciones de fermentación anaerobia eliminaban ácidos orgánicos, como ácido láctico o ácido fórmico al medio ambiente (véase Fig. 13-4A).

Es presumible que esta excreción de ácidos orgánicos haya reducido el pH del medio y favorecido la supervivencia de células que habían desarrollado proteínas transmembrana capaces de bombear H^+ fuera del citosol, lo que evitó que la célula se tornara demasiado ácida (etapa 1, **Fig. 14-40**). Una de estas bombas podría haber usado la energía disponible de la hidrólisis del ATP para eyectar H^+ fuera de la célula; una bomba proteica de este tipo pudo haber sido el antepasado de la ATP sintasa de nuestros días.

Cuando la provisión de nutrientes fermentables de la Tierra comenzó a disminuir, los microorganismos que pudieron encontrar una manera de bombear H^+ sin consumir ATP podrían haber tenido una ventaja: estaban en condiciones de ahorrar las pequeñas cantidades de ATP que provenían de la fermentación de los nutrientes para utilizarlas como combustible en otras actividades celulares importantes. Por lo tanto, presiones selectivas, como la escasez de nutrientes, podrían haber conducido a la evolución de las primeras proteínas transportadoras de electrones; que les permitieron a las células utilizar el desplazamiento de electrones entre moléculas de potenciales redox diferentes como fuente de energía para transportar H^+ a través de la membrana plasmática (etapa 2, **Fig. 14-40**). Algunas de estas células podrían haber usado los ácidos orgánicos no fermentables que las células adyacentes excretaban como desecho, en la obtención de los electrones necesarios para alimentar al sistema. Algunas bacterias actuales crecen en ácido fórmico, por ejemplo, utilizando la pequeña cantidad de energía redox proveniente de la transferencia de electrones del ácido fórmico al fumarato para bombear H^+.

Con el tiempo, algunas bacterias podrían haber desarrollado sistemas de bombeo de H^+ mediante transporte de electrones, tan eficientes que podían almacenar más energía redox de la que necesitaban para mantener su pH interno. Estas células habrían generado grandes gradientes electroquímicos de protones, que podrían entonces utilizar para producir ATP. Los protones tal vez volviesen al interior de la célula a través de bombas de H^+ impulsadas por ATP, de una manera básicamente inversa a la que efectúan cuando sintetizan ATP (etapa 3, **Fig. 14-40**). Como estas células requerían una cantidad mucho menor de los nutrientes fermentables cada vez más escasos podrían haber proliferado a expensas de las células vecinas.

Las bacterias fotosintéticas tienen aun demandas menores de su medio ambiente

Sin embargo, el progreso evolutivo más importante en el metabolismo energético fue casi con seguridad la formación de centros fotoquímicos de reacción que podían utilizar la energía de la luz solar en la producción de moléculas como el NADH. Se piensa que esto sucedió tempranamente en el proceso de la evolución celular, hace más de 3 mil millones de años, en las células precursoras de las bacterias verdes sulfurosas. Actualmente, estas bacterias utilizan la energía de la luz para transferir átomos de hidrógeno (en forma de un electrón más un protón) desde el H_2S al NADPH y crean así el fuerte poder reductor que se necesita en la fijación de carbono (**Fig. 14-41**).

El paso siguiente, que se considera que sucedió con la aparición de las cianobacterias hace más de 3 mil millones de años, fue la evolución de microorganismos capaces de utilizar el agua como fuente de electrones para la fotosíntesis. Esto supone la evolución de una enzima que pudiese escindir el agua y la adición de un segundo fotosistema, que actuara en tándem con el primero, lo que permitió superar la enorme diferencia de potencial redox entre el H_2O y el NADPH (véase Fig. 14-33). Las consecuencias biológicas de este paso evolutivo fueron enriquecedoras. Por primera vez existían organismos que tenían sólo demandas químicas mínimas de su medio ambiente. Estas células podrían haberse diseminado y evo-

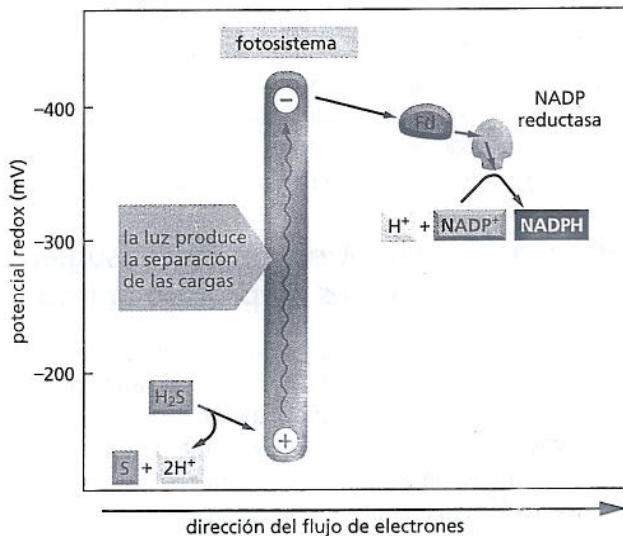


Figura 14-41. La fotosíntesis en las bacterias verdes sulfurosas utiliza ácido sulfhídrico (H_2S) como dador de electrones en lugar de agua. Los electrones se extraen con mayor facilidad del H_2S que del H_2O, porque el H_2S tiene un potencial redox mucho más elevado. (véase Fig. 14-33). Por consiguiente, sólo es necesario un fotosistema que produce NADPH, y el azufre elemental se forma como subproducto en lugar de O_2. El fotosistema de las bacterias verdes sulfurosas se parece al fotosistema I de las plantas y las cianobacterias en que todos utilizan una serie de centros de hierro y azufre como aceptores de electrones, los cuales ceden, por último, sus electrones de alta energía a la ferredoxina (Fd). Un ejemplo de una bacteria de este tipo es *Chlorobium tepidum*, que se puede desarrollar con altas temperaturas e intensidades bajas de luz en las aguas termales.

lucionado como no lograron hacerlo las primeras bacterias fotosintéticas, que necesitaban H_2S o ácidos orgánicos como fuente de electrones. En consecuencia, se acumularon grandes cantidades de materiales orgánicos fermentables, sintetizados biológicamente. Además, el oxígeno se incorporó a la atmósfera por primera vez (Fig. 14-42).

La disponibilidad de O_2 hizo posible el desarrollo de bacterias que se basaron en el metabolismo aerobio en la producción de su ATP. Como se explicó antes, estos microorganismos pudieron aprovechar la gran cantidad de energía liberada por la degradación de los hidratos de carbono y otras moléculas orgánicas reducidas en la vía que lleva al CO_2 y al H_2O.

A medida que se acumulaban materiales orgánicos como productos intermediarios de la fotosíntesis, algunas bacterias fotosintéticas –como las antecesoras de *E. coli*– perdieron su capacidad de sobrevivir utilizando la energía lumínica y comenzaron a depender enteramente de la respiración celular. Las mitocondrias surgieron cuando una célula eucarionte primitiva incorporó una de esas bacterias

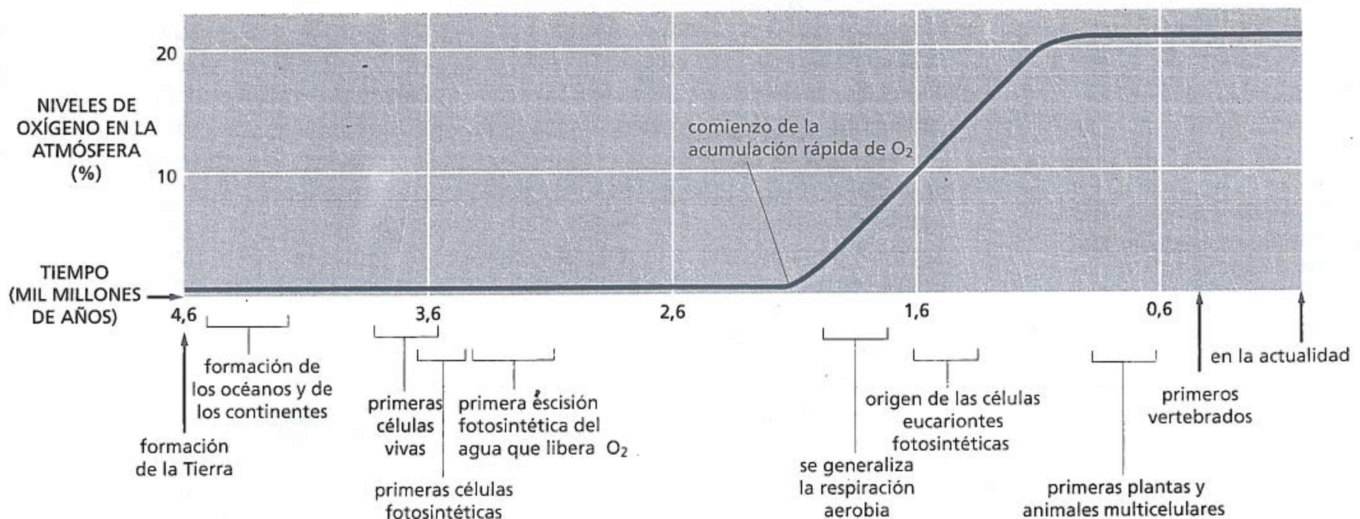


Figura 14-42. La vida en la Tierra evolucionó durante miles de millones de años. Con la evolución de los mecanismos de membrana del proceso de fotosíntesis, los organismos ya no tuvieron que depender de los productos químicos orgánicos preformados. Podrían entonces elaborar sus propias moléculas orgánicas a partir del CO_2 gaseoso. Se considera que la demora de más de mil millones de años entre la aparición de las bacterias que desdoblaban el agua y liberaban O_2 durante la fotosíntesis y la acumulación de altos niveles de O_2 en la atmósfera se debe a la reacción inicial del oxígeno con el abundante ión ferroso (Fe^{2+}) disuelto en los océanos primitivos. Recién a partir del momento en que se agotó el hierro comenzó a acumularse el oxígeno en la atmósfera. Como respuesta al aumento de la cantidad de oxígeno en la atmósfera aparecieron los organismos no fotosintéticos que utilizaban oxígeno y, por último, se elevó la concentración de oxígeno en la atmósfera.

dependiente de la respiración. Las plantas aparecieron algo después cuando una descendiente de esa célula eucarionte aerobia primitiva capturó una bacteria fotosintética, que se transformó en precursor de los cloroplastos. Una vez que las células eucariontes adquirieron los simbiontes bacterianos que se transformarían en las mitocondrias y cloroplastos, pudieron embarcarse en el asombroso camino de la evolución que finalmente los condujo a los organismos multicelulares complejos.

Las condiciones en las que vive *Methanococcus* sugieren que el acoplamiento quimiosmótico es un proceso antiguo

Las condiciones actuales que más se asemejan a aquellas en las cuales se considera que vivieron las células hace 3.500 a 3.800 millones de años pueden ser las que se encuentran en los respiraderos hidrotermales de las profundidades del océano. Estos respiraderos representan sitios donde el manto terrestre en estado de fusión se abre camino a través de la corteza y expande el suelo del océano. En realidad, los organismos modernos que parecen estar más estrechamente relacionados con las hipotéticas células a partir de las cuales habría evolucionado la vida viven a temperaturas muy elevadas (75-95°C), próximas al punto de ebullición del agua. Esta capacidad para desarrollarse a esas temperaturas extremas sugiere que la célula ancestral común de la vida –la que dio origen a las bacterias, las arqueobacterias y los eucariontes– vivió en condiciones anaerobias con temperaturas muy elevadas.

Una de las arqueobacterias que vive en un ambiente similar en nuestros días es *Methanococcus jannaschii*. Aislado originalmente de un respiradero hidrotermal a más de 1.500 m por debajo de la superficie del océano, el organismo crece por completo a base de nutrientes inorgánicos, en total ausencia de luz y de oxígeno, y utilizando como principios nutritivos el hidrógeno (H_2), el CO_2 y el nitrógeno gaseoso (N_2) que burbujean en los respiraderos de la corteza terrestre. Su forma de existencia nos da una pista acerca de cómo las células primitivas podrían haber utilizado el transporte de electrones en la obtención de su energía y sus moléculas de carbono a partir de las sustancias inorgánicas que estaban libremente disponibles en la superficie terrestre primitiva.

Methanococcus utiliza el gas N_2 como fuente nitrogenada en la formación de moléculas orgánicas como los aminoácidos. El microorganismo reduce el N_2 a amoníaco (NH_3) mediante la adición de hidrógeno, proceso que se denomina **fijación de nitrógeno**. Este proceso requiere una gran cantidad de energía, al igual que el proceso de fijación de carbono por el cual las bacterias convierten el CO_2 en azúcares. Gran parte de la energía requerida para ambos procesos proviene de la transferencia de electrones del H_2 al CO_2, con la liberación de grandes cantidades de metano (CH_4) como producto de desecho (la formación de este gas le da el nombre al organismo; Fig. 14-43). Parte de esa transferencia de electrones tiene lugar en la membrana y resulta en el bombeo de protones (H^+) a través de ella. El gradiente electroquímico de protones resultante estimula a una ATP sintasa de la misma membrana a generar ATP.

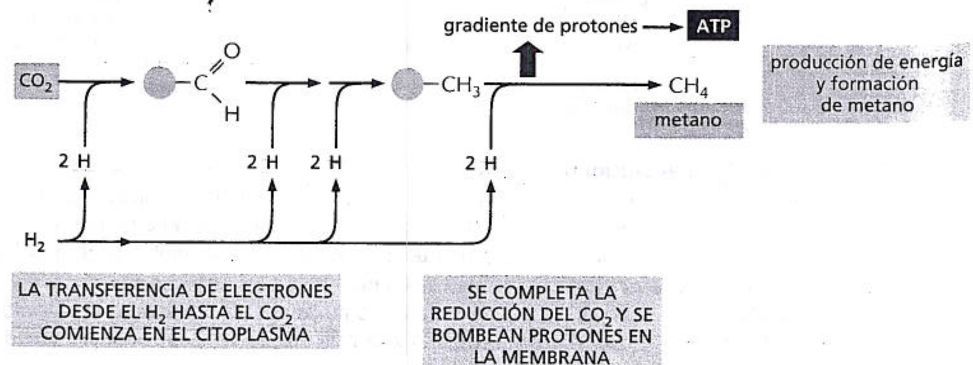


Figura 14-43. *Methanococcus* utiliza el acoplamiento quimiosmótico en la producción de energía. Esta Archaea de las profundidades del océano utiliza el gas hidrógeno (H_2) como fuente del poder reductor en la generación de energía. Los pasos de reducción inicial tienen lugar en el citoplasma mediante reacciones catalizadas por enzimas. Por el contrario, el paso de reducción final implica una transferencia de electrones por un mecanismo de membrana que origina el gradiente de protones necesario para activar la síntesis del ATP, mientras se produce metano como producto de desecho. Los círculos verdes del diagrama representan una serie de coenzimas especiales a las que están unidos los productos metabólicos intermediarios.

El hecho de que este acoplamiento quimiosmótico exista ya en un microorganismo tan primitivo como *Methanococcus* sugiere que el almacenamiento de energía procedente del transporte de electrones en un gradiente de H^+ es un proceso extremadamente antiguo. Por lo tanto, es probable que el acoplamiento quimiosmótico haya participado en la evolución de casi todas las formas de vida en la Tierra.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las mitocondrias, los cloroplastos y muchas bacterias producen ATP por un mecanismo de membrana que se denomina acoplamiento quimiosmótico.
- Las mitocondrias generan la mayor parte del ATP de las células animales utilizando la energía proveniente de la oxidación de los azúcares y los ácidos grasos.
- Las mitocondrias tienen dos membranas: interna y externa. La interna delimita la matriz mitocondrial, un compartimiento que contiene muchas enzimas, como las del ciclo del ácido cítrico. Estas enzimas dan origen a grandes cantidades de NADH y $FADH_2$ a partir de la oxidación de la acetil CoA.
- En la membrana mitocondrial interna, los electrones de alta energía donados por el NADH y el $FADH_2$ se desplazan a lo largo de una cadena de transporte de electrones –la cadena respiratoria– y se combinan por último con el oxígeno molecular (O_2) mediante una reacción favorable desde el punto de vista energético.
- Gran parte de la energía liberada por las transferencias de electrones a lo largo de la cadena respiratoria se aprovecha para bombear H^+ fuera de la matriz mitocondrial, esto crea un gradiente electroquímico transmembrana de protones (H^+). El bombeo de protones se realiza por tres grandes complejos enzimáticos respiratorios localizados en la membrana.
- El gradiente electroquímico de protones resultante a través de la membrana mitocondrial interna se aprovecha en la formación de ATP cuando los iones H^+ fluyen de nuevo a la matriz a través de la ATP sintasa, una enzima localizada en las membranas tilacoides de los cloroplastos.
- El gradiente de protones también impulsa el transporte activo de metabolitos hacia adentro y hacia afuera de la mitocondria.
- En el proceso de fotosíntesis que se realiza en los cloroplastos y las bacterias fotosintéticas, los electrones de alta energía se generan cuando la clorofila absorbe la luz solar; esta energía es captada por complejos proteicos denominados fotosistemas, que en las células vegetales se localizan en las membranas tilacoides de los cloroplastos.
- Las cadenas de transporte de electrones asociadas con los fotosistemas transfieren electrones del agua al $NADP^+$ y forman NADPH. El O_2 se genera como subproducto.
- Las cadenas de transporte de electrones en los cloroplastos también generan un gradiente de protones a través de la membrana tilacoide. Al igual que en las mitocondrias, este gradiente de protones es utilizado por una ATP sintasa de la membrana en la producción de ATP.
- El ATP y el NADPH que se forman por la fotosíntesis son utilizados en el ciclo de fijación de carbono en la estroma del cloroplasto, y se forman de esta manera hidratos de carbono a partir del CO_2.
- Los hidratos de carbono son exportados al citosol de la célula, donde se metabolizan proporcionando carbono orgánico, ATP (la mayor parte vía mitocondrial) y poder reductor al resto de la célula.
- Se considera que tanto las mitocondrias como los cloroplastos evolucionaron a partir de las bacterias fagocitadas por las células eucariontes primitivas. Cada uno de estos orgánulos conserva su propio genoma y se divide por mecanismos semejantes a los de la división de una célula bacteriana.
- Los mecanismos de acoplamiento quimiosmótico están ampliamente difundidos y son antiguos. Los microorganismos modernos que viven en ambientes similares a los que existieron presumiblemente en las etapas más tempranas de la Tierra también utilizan el acoplamiento quimiosmótico en la producción de ATP.

PALABRAS CLAVE

acoplamiento quimiosmótico
ATP sintasa
cadena de transporte de electrones
centro de reacción
centro ferrosulfurado
citocromo
clorofila
cloroplasto
complejo antena
estroma
fijación de carbono
fijación de nitrógeno
fosforilación oxidativa
fotofosforilación cíclica
fotosíntesis
fotosistema
matriz
mitocondria
par redox
potencial redox
quinona
reacción redox

PREGUNTAS

PREGUNTA 14-11

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. Después de haberse eliminado un electrón por la luz, la afinidad por los electrones de la clorofila con carga positiva en el centro de reacción del primer fotosistema (fotosistema II) es incluso mayor que la afinidad por los electrones del O_2.

B. La fotosíntesis es la transferencia de un electrón desde la clorofila a la segunda molécula con una afinidad mucho más baja por los electrones.

C. Dado que se requiere la absorción de cuatro fotones para liberar una molécula de O_2 a partir de dos moléculas de agua, la enzima que escinde el agua tiene que mantener los intermediarios de la reacción firmemente unidos de modo de evitar la liberación de radicales superóxido parcialmente reducidos y, por consiguiente, peligrosos.

PREGUNTA 14-12

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. Los iones metálicos participan en muchas, aunque no en todas, de las reacciones de transferencia de electrones.

B. La cadena de transporte de electrones genera un potencial eléctrico a través de la membrana porque desplaza electrones desde el espacio intermembrana hacia el interior de la matriz.

C. El gradiente electroquímico de protones consta de dos componentes: una diferencia de pH y un potencial eléctrico.

D. La ubiquinona y el citocromo *c* son portadores de electrones difusibles.

E. Las plantas tienen cloroplastos y, por lo tanto, pueden vivir sin mitocondrias.

F. La clorofila y el grupo hemo contienen un extenso sistema de enlaces dobles que les permiten absorber la luz visible.

G. La función de la clorofila en la fotosíntesis es equivalente al del hemo en el transporte de electrones mitocondrial.

H. La mayor parte del peso seco de un árbol proviene de los minerales que se absorben por las raíces.

PREGUNTA 14-13

Un protón único que se desplaza a favor de su gradiente electroquímico dentro del espacio de la matriz mitocondrial libera 4,6 kcal/mol de energía libre. ¿Cuántos protones tendrían que fluir a través de la membrana mitocondrial interna para sintetizar una molécula de ATP si la ΔG para la síntesis en las condiciones de la célula es de 11 a 13 kcal/mol? (ΔG se describe en el capítulo 3, pp. 91-98.) ¿Por qué es un rango expresado por este último valor y no un número preciso? ¿En qué condiciones se aplicaría el valor inferior?

PREGUNTA 14-14

En el siguiente enunciado elija la opción correcta entre las que figuran en bastardilla, y justifique su respuesta. "Si no hay O_2 disponible, todos los componentes de la cadena mitocondrial de transporte de electrones se van a acumular en su forma *reducida/oxidada*. Si súbitamente se añade O_2 de nuevo, los transportadores de electrones de la citocromo oxidasa serán *reducidos/oxidados antes/después* de los de la NADH deshidrogenasa".

PREGUNTA 14-15

Suponga que la transformación de ubiquinona oxidada en ubiquinona reducida por la NADH deshidrogenasa se produce en el lado de la membrana mitocondrial interna que mira hacia la matriz y que su oxidación por el citocromo b-c_1 se produce en el lado de la membrana que mira al espacio intermembrana (véanse Figs. 14-9 y 14-19). ¿Cuáles son las consecuencias de esta disposición para la generación del gradiente de H^+ a través de la membrana?

PREGUNTA 14-16

Si se aplica un voltaje a dos alambres de platino (electrodos) sumergidos en agua, las moléculas de agua se escinden en gas H_2 y O_2. En el electrodo negativo, se donan electrones y se libera gas H_2; en el electrodo positivo, los electrones son aceptados y se produce gas O_2. Cuando las bacterias fotosintéticas y las plantas escinden el agua, se forma O_2, pero no H_2. ¿Por qué?

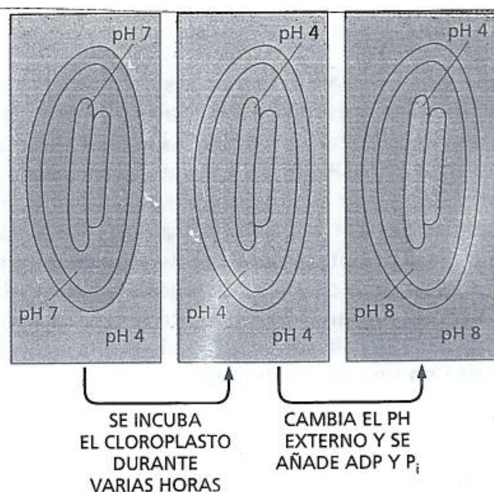


Figura P14-17.

PREGUNTA 14-17

En un experimento perspicaz realizado en la década de 1960, primero se sumergieron cloroplastos en una solución ácida a pH 4, hasta que la estroma y el espacio tilacoide se acidificaran (Fig. P14-17). A continuación se transfirieron a una solución básica (pH 8). Esto aumentó rápidamente el pH de la estroma a 8, mientras que el espacio tilacoide se mantuvo temporariamente en pH 4. Se observó un incremento explosivo de la síntesis de ATP y, entonces, desapareció la diferencia de pH entre el tilacoide y la estroma.

A. Explique por qué estas condiciones conducen a la síntesis de ATP.

B. ¿Se necesita luz para que el experimento funcione?

C. ¿Qué hubiera pasado si las soluciones se hubiesen intercambiado de manera inversa, de forma que la primera incubación hubiera sido en la solución de pH 8 y la segunda en la solución de pH 4?

D. ¿El experimento avala o cuestiona el modelo quimiosmótico? Explique sus respuestas.

PREGUNTA 14-18

Como primer experimento de laboratorio, se le pide que reconstituya juntas, en las mismas vesículas de membrana, bacteriorrodopsina purificada –una bomba de H^+ impulsada por la luz de la membrana plasmática de las bacterias fotosintéticas– y ATP sintasa purificada de mitocondria de corazón de buey (como se muestra en la figura P14-17). Luego se le indica que agregue ADP y P_i al medio externo y que estimule con luz la suspensión de vesículas.

A. ¿Qué observa?

B. ¿Qué observa si no se elimina por completo el detergente y las vesículas de membrana permanecen, por lo tanto, permeables a los iones?

C. Usted le comenta a un amigo durante la cena acerca de sus últimos experimentos, y él le pregunta sobre la validez de una observación que utiliza componentes de organismos no relacionados y tan ampliamente divergentes: "¿Para qué querría alguien mezclar budín de vainilla con líquido para frenos?"
Defienda su punto de vista contra esta crítica.

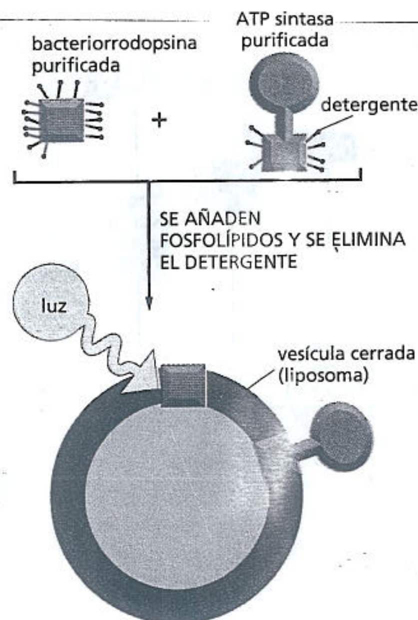
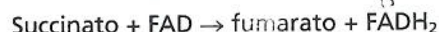


Figura P14-18.

PREGUNTA 14-19

El $FADH_2$ se produce en el ciclo del ácido cítrico por un complejo enzimático situado en la membrana, el de la succinato deshidrogenasa, que contiene FAD unido y que lleva a cabo las reacciones:



$$\text{Succinato} + \text{FAD} \rightarrow \text{fumarato} + \text{FADH}_2$$

y



$$\text{FADH}_2 \rightarrow \text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2e^-$$

Sin embargo, el potencial redox del $FADH_2$ es sólo de –220 mV. Observe la lámina 14-1 (p. 471) y la figura 14-20 y sugiera un mecanismo posible por el que los electrones del $FADH_2$ podrían alimentar la cadena de transporte de electrones. Dibuje un diagrama para ilustrar el mecanismo que propone.

PREGUNTA 14-20

Algunas bacterias se especializaron en habitar un ambiente de pH elevado (pH ~10). ¿Supone usted que estas bacterias utilizan un gradiente de protones a través de la membrana plasmática para producir su ATP? (Ayuda: todas las células deben mantener su citoplasma a un pH cercano a la neutralidad).

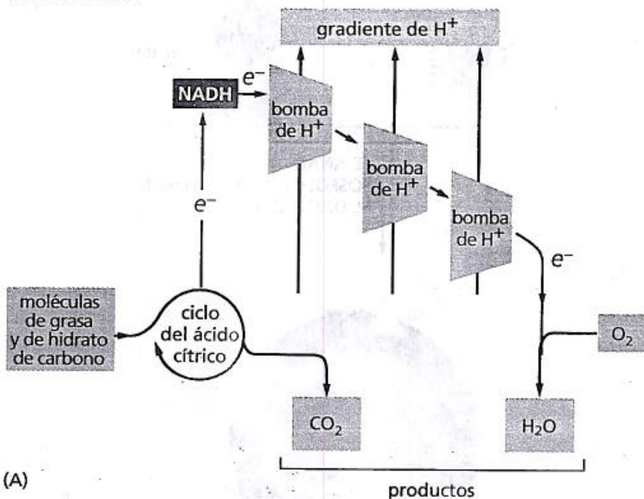
PREGUNTA 14-21

La figura P14-21 resume el circuito utilizado por las mitocondrias y los cloroplastos para interconvertir diferentes formas de energía. Es correcto decir que:

A. Los productos de los cloroplastos son los sustratos para las mitocondrias.

B. La activación de los electrones por los fotosistemas les permite a los cloroplastos impulsar la transferencia de electrones desde el H_2O hasta el hidrato de carbono, en dirección opuesta a la transferencia de electrones que tiene lugar en la mitocondria.

C. El ciclo del ácido cítrico es la inversa del ciclo normal de fijación de carbono.



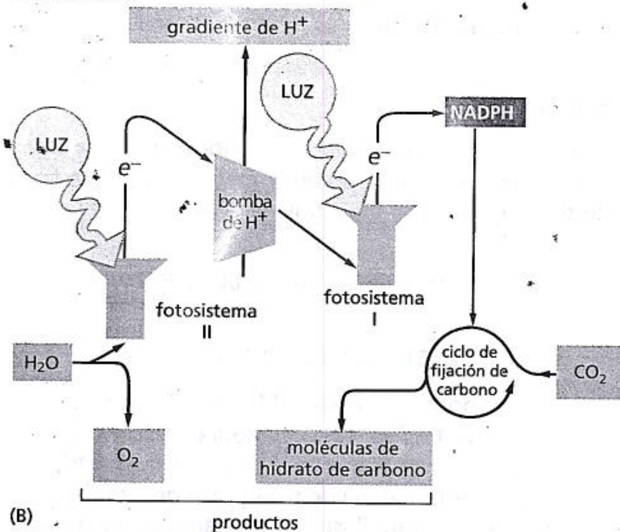


Figura P14-21.

PREGUNTA 14-22

Se ha enviado un manuscrito para su publicación en una revista científica prestigiosa. En el artículo los autores describen un experimento en el que han conseguido aislar una molécula de ATP sintasa y después, por aplicación de una fuerza sobre ella, consiguieron rotar mecánicamente su cabeza. Los autores demuestran que la rotación de la cabeza de la ATP sintasa hace que se forme ATP, en ausencia de un gradiente de H+. ¿Qué significado tendría esto en relación con el mecanismo mediante el cual funciona la ATP sintasa? ¿Debería ser aceptada la publicación de este manuscrito en una de las mejores revistas científicas?

PREGUNTA 14-23

Usted mezcla los componentes indicados en una solución. Suponiendo que los electrones deben seguir la vía especificada en la figura 14-9, ¿en qué experimentos esperaría una transferencia neta de electrones al citocromo *c*? Explique por qué en los otros experimentos no se produce transferencia de electrones.

A. Ubiquinona reducida y citocromo *c* oxidado.

B. Ubiquinona oxidada y citocromo *c* oxidado.

C. Ubiquinona reducida y citocromo *c* reducido.

D. Ubiquinona oxidada y citocromo *c* reducido.

E. Ubiquinona reducida, citocromo *c* oxidado y complejo citocromo b-c_1.

F. Ubiquinona oxidada, citocromo *c* oxidado y complejo citocromo b-c_1.

G. Ubiquinona reducida, citocromo *c* reducido y complejo citocromo b-c_1.

H. Ubiquinona oxidada, citocromo *c* reducido y complejo citocromo b-c_1.

CAPÍTULO **QUINCE** 15

Compartimientos y transporte intracelulares

En cualquier momento dado, una célula eucarionte típica realiza miles de reacciones químicas diferentes, muchas de estas reacciones son incompatibles entre sí. Por ejemplo, mientras que una serie de reacciones elabora glucosa, otras la degradan; algunas enzimas sintetizan enlaces peptídicos en tanto que otras los hidrolizan y así sucesivamente. De hecho, si las células de un órgano como el hígado se rompen y sus contenidos se mezclan en un tubo, se produce un caos químico y las enzimas de las células y otras proteínas se degradan con rapidez por efecto de sus propias enzimas proteolíticas. Para que una célula funcione de manera eficaz, de algún modo se deben separar los diferentes procesos intracelulares que se producen en forma simultánea.

Las células han desarrollado diversas estrategias para aislar y organizar sus reacciones químicas. Una de estas estrategias utilizadas por las células procariontes y por las eucariontes, es agrupar las diferentes enzimas requeridas para catalizar una secuencia particular de reacciones en complejos grandes formados por múltiples componentes. Estos complejos se emplean, por ejemplo, en la síntesis de DNA, RNA y de proteínas. Otra estrategia, que se halla más desarrollada en las células eucariontes, consiste en confinar los diferentes procesos metabólicos, y las proteínas requeridas para llevarlos a cabo, dentro de distintos compartimientos delimitados por membranas. Como se comenta en los capítulos 11 y 12, las membranas celulares representan barreras de permeabilidad selectiva a través de las que se puede controlar el transporte de la mayoría de las moléculas. En este capítulo consideramos la estrategia de la compartimentación y algunas de sus consecuencias.

En la primera sección describiremos los principales compartimientos delimitados por membranas u *orgánulos delimitados por membranas* de las células eucariontes y trataremos en forma breve sus funciones principales. En la segunda sección comentaremos cómo se establece y se mantiene la composición proteica de los diferentes compartimientos. Cada compartimiento contiene un único conjunto de

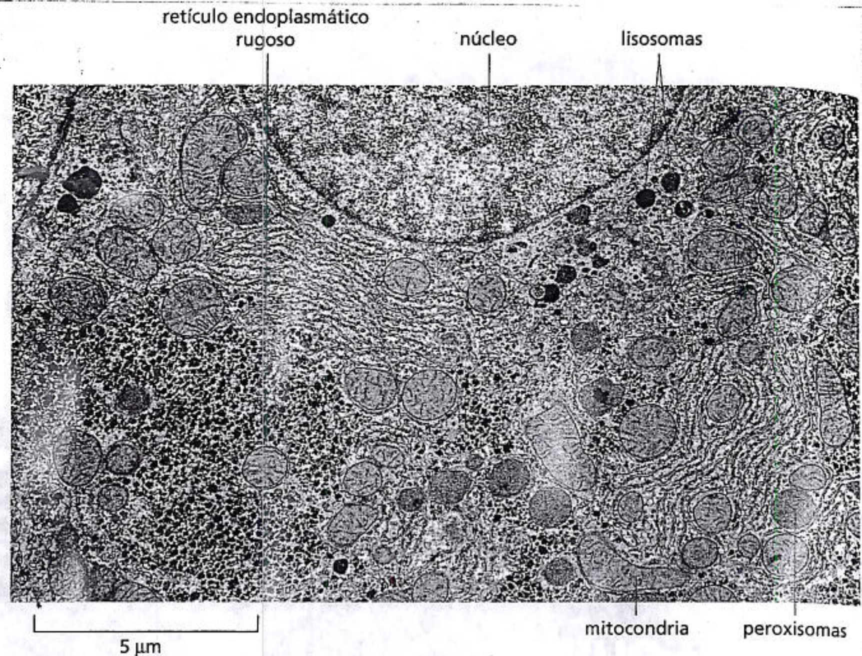


Figura 15-1. En las células eucariontes las membranas internas forman compartimientos y orgánulos donde se realizan diferentes procesos metabólicos. En esta microfotografía electrónica de una parte de una célula hepática, tomada en un corte transversal, se pueden identificar ejemplos de muchos de los principales orgánulos delimitados por membranas. Los pequeños gránulos negros que se encuentran entre compartimientos delimitados por membranas son agregados de glucógeno y de las enzimas que controlan su síntesis y degradación. (Cortesía de Daniel S. Friend).

proteínas que debe transferirse en forma selectiva desde el citosol, donde se fabrica, hasta el compartimiento en el que será utilizado. Este proceso de transferencia, llamado *distribución de proteínas*, depende de señales establecidas en la secuencia de aminoácidos de las proteínas. En la tercera sección describiremos cómo, en las células eucariontes, ciertos compartimientos delimitados por membranas se comunican con otros por medio de la formación de pequeños sacos membranosos o *vesículas*, que se desprenden de un compartimiento, se desplazan a través del citosol y se fusionan con otros compartimientos en un proceso denominado *transporte vesicular*. En las dos últimas secciones examinaremos cómo este tráfico vesicular constante también da origen a las vías principales de liberación de proteínas desde la célula por medio del proceso de *exocitosis* y de captura desde el exterior por el proceso de *endocitosis*.

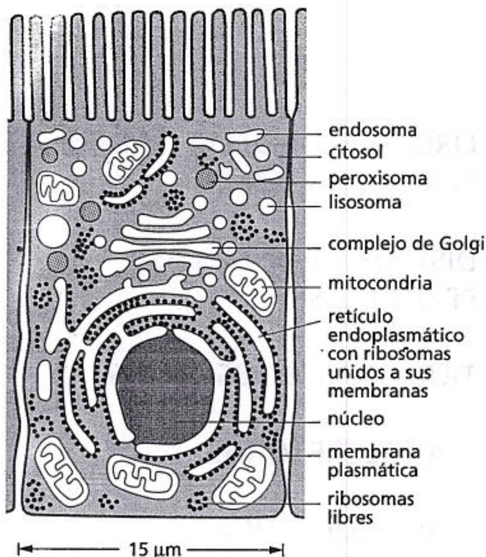


Figura 15-2. Una célula de la mucosa intestinal contiene el conjunto básico de orgánulos encontrados en la mayoría de las células animales. El núcleo, el retículo endoplasmático (RE), el complejo de Golgi, los lisosomas, los endosomas, las mitocondrias y los peroxisomas son compartimientos definidos, separados del citosol (*gris*) por al menos una membrana que posee permeabilidad selectiva. También se muestran los ribosomas, aun cuando no están delimitados por una membrana y son tan pequeños que no se pueden ver con el microscopio óptico y, por lo tanto, no se adaptan a la definición original de orgánulo. Algunos ribosomas están libres en el citosol, mientras que otros están unidos a la superficie citosólica del RE.

ORGÁNULOS DELIMITADOS POR MEMBRANAS

Mientras que una célula procarionte está compuesta por un compartimiento único, el **citosol**, encerrado en la membrana plasmática, una célula eucarionte se encuentra subdividida, de manera intrincada, por membranas internas. Estas membranas crean compartimientos cerrados en los que conjuntos de enzimas pueden actuar sin interferencia de las reacciones que se producen en otros compartimientos. Cuando se examina al microscopio electrónico un corte transversal de una célula vegetal o animal, se pueden observar numerosos sacos, tubos, esferas y estructuras de forma irregular, pequeños, delimitados por membranas, dispuestos sin orden aparente (Fig. 15-1). Estas estructuras constituyen distintos orgánulos, o parte de ellos, cada uno de los cuales contiene un conjunto único de moléculas pequeñas y grandes y desarrolla funciones especializadas. En esta sección revisaremos estas funciones y examinaremos cómo pudieron haber evolucionado los diferentes orgánulos delimitados por membranas.

Las células eucariontes contienen un conjunto básico de orgánulos delimitados por membranas

Los principales **orgánulos delimitados por membranas** de una célula animal se ilustran en la Figura 15-2 y sus funciones se resumen en el cuadro 15-1. Estos orgánulos están rodeados por el citosol, que está delimitado a su vez por la membrana plasmática. El *núcleo* es, en general, el orgánulo más importante en las células eucariontes. Está cercado por una membrana doble, conocida como la

CUADRO 15-1 PRINCIPALES FUNCIONES DE LOS COMPARTIMIENTOS DELIMITADOS POR MEMBRANAS DE UNA CÉLULA

COMPARTIMIENTO	FUNCIÓN PRINCIPAL
Citosol	contiene muchas vías metabólicas (capítulos 3 y 13); síntesis proteica (capítulo 7)
Núcleo	contiene el genoma principal (capítulo 5); síntesis de DNA y RNA (capítulos 6 y 7)
Retículo endoplasmático (RE)	síntesis de la mayoría de los lípidos (capítulo 11); síntesis de proteínas que se distribuyen hacia muchos orgánulos y hacia la membrana plasmática (este capítulo)
Complejo de Golgi	modificación, distribución y empaquetamiento de proteínas y lípidos sea para secreción o envío hacia otro orgánulo (este capítulo)
Lisosomas	degradación intracelular (este capítulo)
Endosomas	distribución de material endocitado (este capítulo)
Mitocondria	síntesis de ATP por fosforilación oxidativa (capítulo 14)
Cloroplastos (en las células vegetales)	síntesis de ATP y fijación de carbono en la fotosíntesis (capítulo 14)
Peroxisomas	oxidación de moléculas tóxicas

envoltura nuclear y se comunica con el citosol a través de poros nucleares que perforan la envoltura. La membrana nuclear externa se continúa con la membrana del *retículo endoplasmático (RE)*, un sistema de sacos y tubos membranosos interconectados que, con frecuencia, se extienden a todo lo largo de la célula. El RE es el sitio principal de síntesis de membranas nuevas en la célula. Grandes áreas del sistema tienen ribosomas adheridos a la superficie citosólica, por lo que se denomina *retículo endoplasmático rugoso (RE rugoso)*. Los ribosomas llevan a cabo la síntesis activa de proteínas que después se liberan en la luz o la membrana del RE. El *retículo endoplasmático liso (RE liso)* es escaso en la mayoría de las células, pero está muy desarrollado en otras de modo que realizan funciones particulares: por ejemplo, es el sitio de síntesis de las hormonas esteroides en las células de la glándula suprarrenal y el sitio donde se detoxifica una variedad de moléculas orgánicas, incluido el alcohol, en las células hepáticas. En muchas células eucariontes el RE liso secuestra también el Ca^{2+} del citosol; la liberación y la recaptación del Ca^{2+} del RE está implicada en la respuesta rápida a muchas señales extracelulares, como se comenta en los capítulos 12 y 16.

El *complejo de Golgi*, que suele situarse cerca del núcleo, recibe proteínas y lípidos desde el RE, los modifica y luego los remite hacia otros destinos en la célula. Los sacos pequeños de enzimas digestivas denominados *lisosomas* degradan los orgánulos desgastados, como también las macromoléculas y las partículas capturadas por la célula por medio de la endocitosis. En su camino hacia los lisosomas, los materiales endocitados deben pasar primero a través de una serie de compartimientos llamados *endosomas*, que distribuyen las moléculas ingeridas y reciclan algunas de ellas de nuevo hacia la membrana plasmática.

Los **peroxisomas** son orgánulos pequeños delimitados por una única membrana. Contienen enzimas que se emplean en una variedad de reacciones oxidativas que degradan lípidos y destruyen moléculas tóxicas. Las mitocondrias y los cloroplastos (en las células vegetales) están rodeados por una membrana doble y son los sitios de la fosforilación oxidativa y la fotosíntesis, respectivamente (comentadas en capítulo 14); ambos contienen membranas que están muy especializadas en la producción de ATP.

Muchos de los orgánulos delimitados por membranas como el RE, el complejo de Golgi, las mitocondrias y los cloroplastos, se mantienen en sus localizaciones relativas en la célula por adherencia al citoesqueleto, en especial a los microtúbulos. Los filamentos del citoesqueleto constituyen carriles de desplazamiento de los orgánulos y de dirección del tránsito de las vesículas entre ellos. Estos movimientos son impulsados por proteínas motoras que utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para propulsar los orgánulos y las vesículas a lo largo de los filamentos, como se describe en el capítulo 17.

En promedio, los orgánulos delimitados por membranas ocupan en conjunto casi la mitad del volumen de una célula eucarionte (Cuadro 15-2) y la cantidad total de membrana asociada con ellos es enorme: en una célula típica de mamífero, por

CUADRO 15-2. VOLÚMENES RELATIVOS OCUPADOS POR LOS PRINCIPALES ORGÁNULOS DELIMITADOS POR MEMBRANAS EN UNA CÉLULA HEPÁTICA (HEPATOCITO)

COMPARTIMIENTO INTRACELULAR	PORCENTAJE DEL VOLUMEN TOTAL DE LA CÉLULA	NÚMERO APROXIMADO POR CÉLULA
Citosol	54	1
Mitocondria	22	1.700
Retículo endoplasmático	12	1
Núcleo	6	1
Complejo de Golgi	3	1
Peroxisomas	1	400
Lisosomas	1	300
Endosomas	1	200

ejemplo, el área de la membrana del retículo endoplasmático es de 20 a 30 veces mayor que el de la membrana plasmática. En términos de superficie y masa, la membrana plasmática es sólo un componente membranoso menor en la mayoría de las células eucariontes.

Se puede aprender mucho de la composición y la función de un orgánulo una vez que se ha aislado de otras estructuras celulares. Si bien los orgánulos son demasiado pequeños para ser aislados en forma manual es posible separarlos entre sí por centrifugación diferencial (descrita en la lámina 4-4, pp. 164-165). Una vez que se ha obtenido una muestra purificada de un tipo de orgánulo se pueden identificar sus proteínas. En muchos casos se incuba el orgánulo en un tubo de ensayo en condiciones que permiten estudiar sus funciones. Las mitocondrias aisladas, por ejemplo, pueden producir ATP a partir de la oxidación del piruvato a CO_2 y agua, siempre que se les suministre ADP y O_2 en cantidad suficiente.

Los orgánulos delimitados por membranas evolucionaron en formas diferentes

Para intentar comprender las relaciones entre los diferentes compartimientos de una célula eucarionte moderna, es útil considerar cómo debieron haber evolucionado. Es probable que los compartimientos hayan evolucionado en etapas. Se considera que los precursores de las primeras células eucariontes fueron microorganismos simples, semejantes a las bacterias, que tenían membrana plasmática, pero no membranas internas. En estas células, la membrana plasmática habría satisfecho todas las funciones dependientes de membranas, entre ellas la síntesis de ATP y de los lípidos, como lo hace la membrana plasmática en la mayoría de las bacterias modernas. Las bacterias pueden prosperar con esta disposición debido a su pequeño tamaño y, por esa razón, a su elevada relación superficie-volumen: el área de la membrana plasmática es suficiente para sostener todas las funciones vitales para las que es requerida. Las células eucariontes actuales, sin embargo, tienen volúmenes 1.000 a 10.000 veces más grandes que el de una bacteria típica como *E. coli*. Una célula de tamaño similar tiene una relación superficie-volumen pequeña y es posible que no sobreviva con la membrana plasmática como única membrana. De este modo, es probable que sin el desarrollo de sus membranas internas no se hubiera producido el incremento del tamaño de una célula eucarionte típica.

Se considera que los orgánulos delimitados por membranas surgieron durante la evolución a partir de por lo menos, dos orígenes. Se cree que las membranas nucleares y las del RE, el complejo de Golgi, los endosomas y los lisosomas se originaron por invaginación de la membrana plasmática (Fig. 15-3). Estas membranas, y los orgánulos que rodean, forman parte de lo que se denomina *sistema de endomembranas*. Como explicaremos después, los contenidos de estos orgánulos (con excepción del núcleo) están comunicados de manera extensa entre sí y con el exterior de la célula por medio de vesículas pequeñas que brotan de uno de ellos

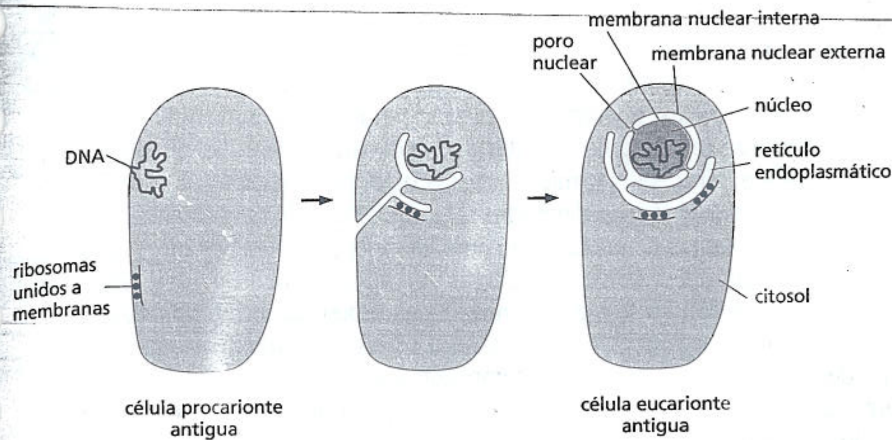


Figura 15-3. Las membranas nucleares y el RE pueden haber evolucionado por la invaginación de la membrana plasmática. En las bacterias, la única molécula de DNA está adherida a la membrana plasmática. Es posible que en una célula procarionte muy antigua la membrana plasmática, con su DNA adherido, se hubiera invaginado hasta formar una envoltura de dos capas de membranas que rodearan por completo al DNA. Se supone que esta envoltura finalmente se desprendió de la membrana plasmática en su totalidad, originando un compartimiento nuclear rodeado por una membrana doble. Esta envoltura nuclear se encuentra penetrada por canales denominados poros nucleares, que le permiten comunicarse en forma directa con el citosol. Otras porciones de la misma membrana formaron el RE, al que se adhirieron algunos ribosomas. Este esquema hipotético explicaría por qué el espacio entre las membranas interna y la externa del núcleo se continúa con la luz del RE.

y se fusionan con otro. En concordancia con este origen evolutivo las células tratan los contenidos de estos orgánulos en cierto modo como si fuesen "extracelulares". El esquema hipotético presentado en la figura 15-3 explicaría también por qué el núcleo está rodeado por dos membranas. Si bien es infrecuente la invaginación de la membrana en las bacterias actuales, sí se produce en algunas bacterias fotosintéticas en las que se internalizan las regiones de la membrana plasmática que contienen el aparato fotosintético, formando vesículas intracelulares.

Se considera que las mitocondrias y los cloroplastos se originaron de maneras diferentes. Se diferencian de todos los demás orgánulos en que poseen pequeños genomas que pueden elaborar sus propias proteínas, como se describió en el capítulo 14. La similitud de estos genomas y de algunas de sus proteínas con los de las bacterias sugieren con firmeza que las mitocondrias y los cloroplastos evolucionaron a partir de las bacterias que fueron endocitadas por células eucariontes primitivas con las que inicialmente vivieron en simbiosis (Fig. 15-4). Como sería de esperar por sus orígenes, las mitocondrias y los cloroplastos permanecen aislados del tránsito vesicular extenso que conecta el interior de la mayoría del resto de los orgánulos circundados por membranas entre sí y con el exterior de la célula.

Después de haber realizado una revisión breve de los principales orgánulos delimitados por membranas de la célula eucarionte, volvemos ahora a la pregunta de cómo adquiere cada orgánulo su conjunto único de proteínas.

PREGUNTA 15-1

Como se muestra en los dibujos de la Figura 15-3, la bicapa lipídica de la membrana interna y externa del núcleo forma una hoja continua, unida alrededor de los poros nucleares. Como las membranas son fluidos bidimensionales, esto implicaría que las proteínas de membrana pueden difundirse libremente entre las dos membranas nucleares. Sin embargo, cada una de ellas tiene una composición proteica diferente, lo que refleja funciones diferentes. ¿Cómo conciliaría esta paradoja aparente?

DISTRIBUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Antes de que una célula eucarionte se reproduzca mediante la división en dos debe duplicar sus orgánulos delimitados por membranas. Una célula no puede fabricarlos de la nada: requiere información y materiales contenidos en los mis-

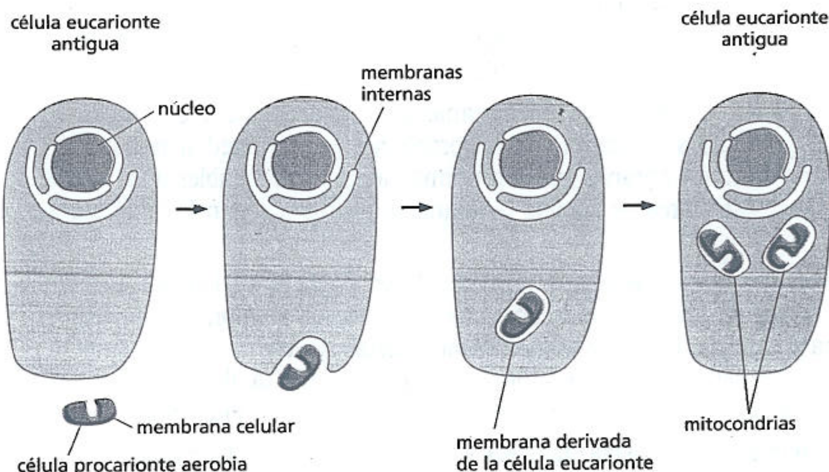


Figura 15-4. **Se considera que las mitocondrias se originaron cuando un procarionte aerobio fue incorporado por una célula eucarionte anaerobia más grande.** Se cree que los cloroplastos se originaron más tarde en una forma similar, cuando una célula eucarionte aerobia internalizó un procarionte fotosintético. Esta teoría explicaría por qué estos orgánulos tienen dos membranas y por qué no participan en el tránsito vesicular que conecta muchos otros compartimientos intracelulares.

mos orgánulos. De este modo, la mayoría de ellos se forman a partir de otros preexistentes, que crecen y se dividen. A medida que la célula crece, los orgánulos delimitados por membranas aumentan de tamaño por la incorporación de nuevas moléculas; a continuación de dividen y, durante la división celular, se distribuyen entre las dos células hijas. El crecimiento de los orgánulos requiere el aporte de lípidos nuevos que elaboran más membrana y la provisión de las proteínas adecuadas (tanto las proteínas de membrana como las proteínas solubles que ocuparán el interior del orgánulo). Aun en las células que no se encuentran en división, las proteínas se producen en forma continua. Estas proteínas recién sintetizadas se deben enviar a los orgánulos de una manera precisa (algunas para su secreción final desde la célula y otras para reemplazar las proteínas de los orgánulos que fueron degradadas). Por lo tanto, es necesario dirigir las proteínas recién formadas a los orgánulos correspondientes de modo que una célula pueda crecer, dividirse y funcionar en forma adecuada.

En el caso de algunos orgánulos como las mitocondrias, los cloroplastos, los peroxisomas y el interior del núcleo, las proteínas son proporcionadas directamente desde el citosol. En otros casos, como sucede en el complejo de Golgi, los lisosomas, los endosomas y las membranas nucleares, las proteínas y los lípidos son proporcionados indirectamente a través del RE, que constituye el sitio principal de la síntesis de estas sustancias. Las proteínas ingresan al RE directamente desde el citosol: algunas se retienen allí, pero la mayoría se transporta por medio de vesículas hacia el sistema de Golgi y, más tarde, hacia otros orgánulos o a la membrana plasmática.

En esta sección se explican los mecanismos por los que las proteínas entran directamente en los orgánulos delimitados por membranas desde el citosol. Las proteínas elaboradas en el citosol son dirigidas hacia localizaciones diferentes en la célula de acuerdo con los rótulos de dirección específicos que contienen en sus secuencias de aminoácidos. Cuando alcanzan la dirección correcta, ingresan en el orgánulo.

Las proteínas ingresan en los orgánulos por medio de tres mecanismos

La síntesis de casi todas las proteínas de la célula comienza en los ribosomas del citosol. Las excepciones son las escasas proteínas de las mitocondrias y de los cloroplastos que se sintetizan en los ribosomas que se encuentran en el interior de estos orgánulos; sin embargo, la mayoría de las proteínas de las mitocondrias y de los cloroplastos se elaboran en el citosol y luego se importan. El destino de cualquier molécula proteica sintetizada en el citosol depende de su secuencia de aminoácidos, que puede contener una *señal de distribución* que dirige a la proteína hacia el orgánulo en que se la requiere. Las proteínas que carecen de esa señal quedan como residentes permanentes en el citosol; las que poseen la señal, se desplazan desde el citosol hacia el orgánulo apropiado. Señales de distribución diferentes dirigen las proteínas hacia el núcleo, las mitocondrias, los cloroplastos (en los vegetales), los peroxisomas y el RE.

Cuando un orgánulo delimitado por membranas importa proteínas desde el citosol o desde otro orgánulo se enfrenta con un problema: ¿cómo pueden transportar proteínas a través de membranas que son normalmente impermeables a las moléculas hidrófilas? Esta tarea se cumple de maneras distintas según los diferentes orgánulos.

1. Las proteínas que se desplazan desde el citosol hacia el núcleo se transportan a través de los poros nucleares que penetran las membranas nucleares interna y externa; los poros actúan como puertas selectivas que transportan macromoléculas específicas en forma activa, pero que también permiten la difusión libre de moléculas más pequeñas (mecanismo 1, **Fig. 15-5**).
2. Las proteínas que se desplazan desde el citosol hacia el RE, las mitocondrias, los cloroplastos o los peroxisomas atraviesan la membrana del orgánulo por

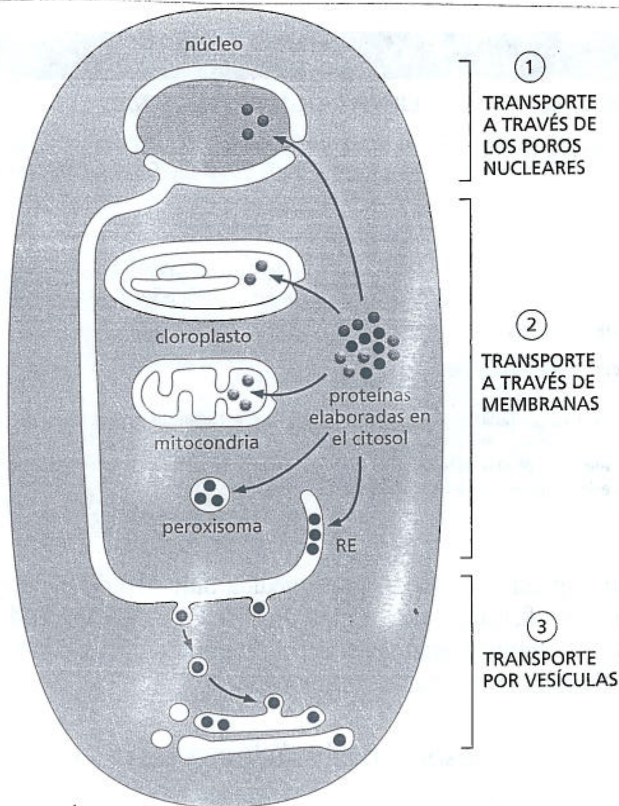


Figura 15-5. Los orgánulos delimitados por membranas importan proteínas por uno de tres mecanismos posibles. Todos estos procesos requieren energía. La proteína permanece plegada durante los pasos del transporte en los mecanismos 1 y 3, pero suele desplegarse en el mecanismo 2.

intermedio de *proteínas translocadoras* localizadas en ésta; a diferencia del transporte a través de los poros nucleares, la molécula proteica transportada debe desplegarse de modo de poder cruzar la membrana en forma serpenteante (mecanismo 2, Fig. 15-5). Las bacterias cuentan con proteínas translocadoras similares en sus membranas plasmáticas que utilizan en la exportación de proteínas desde su citosol.

3. Las proteínas que se desplazan desde el RE hacia un compartimiento del sistema de endomembranas o desde él, se transportan por medio de un mecanismo que es fundamentalmente diferente de los otros dos. Estas proteínas son conducidas por *vesículas de transporte*, que se cargan con proteínas desde el espacio interior de un compartimiento o luz, a medida que se desprenden de su membrana. A continuación, las vesículas descargan su contenido en un segundo compartimiento y se funden con la membrana (mecanismo 3, Fig. 15-5). En el proceso se envían también lípidos y proteínas de membrana desde el primer compartimiento hacia el segundo.

Las secuencias señal dirigen las proteínas hacia el compartimiento correcto

La señal de distribución típica de las proteínas es un segmento continuo de la secuencia de aminoácidos, por lo general, de 15 a 60 aminoácidos de longitud. Con frecuencia (pero no siempre) esta **secuencia señal** se elimina de la proteína terminada, una vez que se realizó la distribución. En el cuadro 15-3 se muestran algunas de estas secuencias señal que especifican los diferentes destinos en la célula.

Las secuencias señal son necesarias y suficientes para dirigir una proteína hacia un orgánulo en particular. Esto fue demostrado con experimentos en los que se eliminó o transfirió la secuencia de una proteína a otra por intermedio de técnicas de ingeniería genética (descritas en el capítulo 10). Por ejemplo, la eliminación de un secuencia señal de una proteína del RE la convierte en citosólica, mientras que la colocación de un secuencia señal de RE al comienzo de una proteína citosólica vuelve a dirigirla hacia el RE (Fig. 15-6). Las secuencias señal que especifican el

CUADRO 15-3 ALGUNAS SECUENCIAS SEÑALES TÍPICAS

FUNCIÓN DE SEÑAL	EJEMPLO DE SECUENCIA SEÑAL
Importar hacia el RE	$^{+}H_3N$-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Val-Phe-Gln-
Retención en la luz del RE	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO-
Importar hacia la mitocondria	$^{+}H_3N$-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Importar hacia el núcleo	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Importar hacia los peroxisomas	-Ser-Lys-Leu-

Los aminoácidos con cargas positivas se muestran en *rojo* y los que tienen carga negativa en *azul*. En la caja amarilla se encierra un bloque extenso de aminoácidos hidrófobos.
$^{+}H_3N$ indica el N-terminal de una proteína; COO^- indica el C-terminal. La señal de retención en el RE suele denominarse por la abreviatura formada por las iniciales de sus aminoácidos, KDEL.

mismo destino pueden variar en gran medida aun cuando tienen la misma función: propiedades físicas, como la hidrofobicidad o la ubicación de los aminoácidos cargados, a menudo aparentan ser más importantes en la función de estas señales que la secuencia exacta de aminoácidos.

Las proteínas ingresan en el núcleo a través de los poros nucleares

La **envoltura nuclear** encierra el DNA y define el compartimiento nuclear. Está formada por dos membranas concéntricas. La membrana nuclear interna contiene proteínas que actúan como sitios de unión de los cromosomas (tratados en el capítulo 5) y provee el anclaje para la *lámina nuclear*, una red de filamentos proteicos finamente entretejidos que reviste la cara interna de esta membrana y proporciona el sostén estructural para la envoltura nuclear (comentada en capítulo 17). La composición de la membrana externa tiene una semejanza estrecha con la membrana del RE, con la que se continúa (Fig. 15-7).

En todas las células eucariontes, la envoltura nuclear está perforada por los **poros nucleares**, que forman las puertas a través de las que entran o abandonan el núcleo todas las moléculas. El tránsito se produce en ambas direcciones a través de los poros: las proteínas recién elaboradas destinadas al núcleo ingresan desde el citosol (Película 15-1); las moléculas de RNA, que se sintetizan en el núcleo, y las subunidades ribosómicas, ensambladas en él, se exportan. Las moléculas del

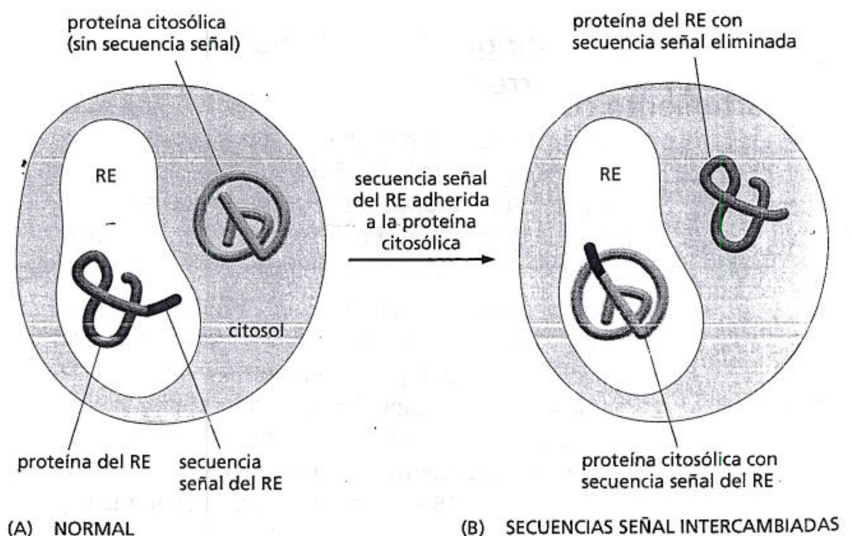


Figura 15-6. Los secuencias señal conducen a las proteínas al orgánulo correspondiente. (A) Las proteínas destinadas al RE poseen un secuencia señal N-terminal que las conduce hacia ese orgánulo, mientras que las destinadas a permanecer en el citosol carecen de esta secuencia. (B) Pueden usarse técnicas de DNA recombinante para cambiar la posición de los dos tipos de proteínas: se elimina la secuencia señal de la proteína del RE y se la adhiere a la proteína citosólica. El resultado es que las proteínas terminan en una localización anormal en la célula. Estos experimentos indican que la secuencia señal del RE es necesaria y suficiente para dirigir una proteína hacia allí.

RNA mensajero que se empalmaron en forma incompleta no se exportan desde el núcleo, lo que sugiere que el transporte nuclear es un paso final de control de calidad en la síntesis y el procesamiento del mRNA (explicado en el capítulo 7).

Un poro nuclear es una estructura grande y compleja compuesta por alrededor de unas 100 proteínas diferentes (Fig. 15-8). Cada poro contiene uno o más canales llenos de agua a través de los cuales las moléculas hidrosolubles pequeñas pueden pasar libremente y de manera no selectiva entre el núcleo y el citosol. Muchas de las proteínas que revisten el poro nuclear contienen regiones extensas y no estructuradas, que se consideran que forman una maraña desordenada, muy parecida al lecho de algas marino. La malla entremezclada llena el centro del canal y evita el pasaje de moléculas grandes, pero permite la salida de las más pequeñas.

Las moléculas más grandes (como las proteínas y los RNA) y los complejos macromoleculares deben presentar una señal de distribución apropiada para pasar a través del poro nuclear. La secuencia señal que dirige a una proteína desde el citosol hacia el núcleo, llamada *señal de localización nuclear*, consiste típicamente en una o dos secuencias cortas que contienen varias lisinas o argininas con carga positiva (véase cuadro 15-3).

Las proteínas citosólicas, denominadas *receptores de transporte nuclear*, se unen con la señal de localización nuclear ubicada sobre las proteínas recién sintetizadas destinadas al núcleo. Estos receptores ayudan a dirigir la proteína nueva hacia un poro nuclear al interactuar con las fibrillas similares a tentáculos que se extienden desde el reborde del poro (Fig. 15-9). Como toda proteína que crea orden, la importación de proteínas al núcleo requiere energía. En este caso, la energía es provista por la hidrólisis del GTP, que impulsa el transporte nuclear en la dirección apropiada (Fig. 15-10). Las proteínas del poro nuclear operan esta puerta molecular a una velocidad asombrosa que bombea las macromoléculas en ambas direcciones a través de cada poro.

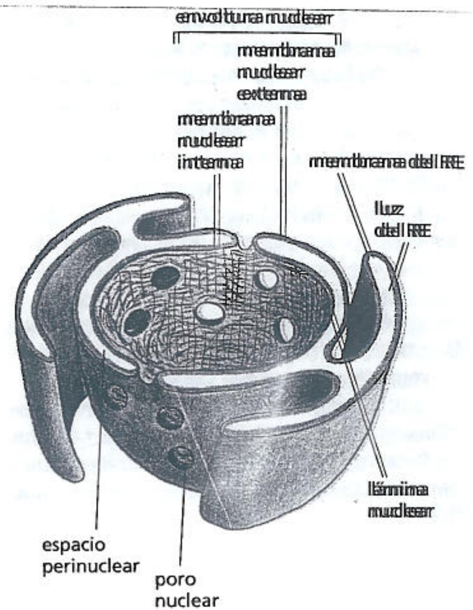


Figura 15-7. La membrana nuclear externa se continúa con el RE. La membrana doble de la envoltura nuclear está penetrada por los poros nucleares. No se muestran los ribosomas que normalmente se encuentran unidos a la superficie citosólica de la membrana del RE y a la membrana nuclear externa.

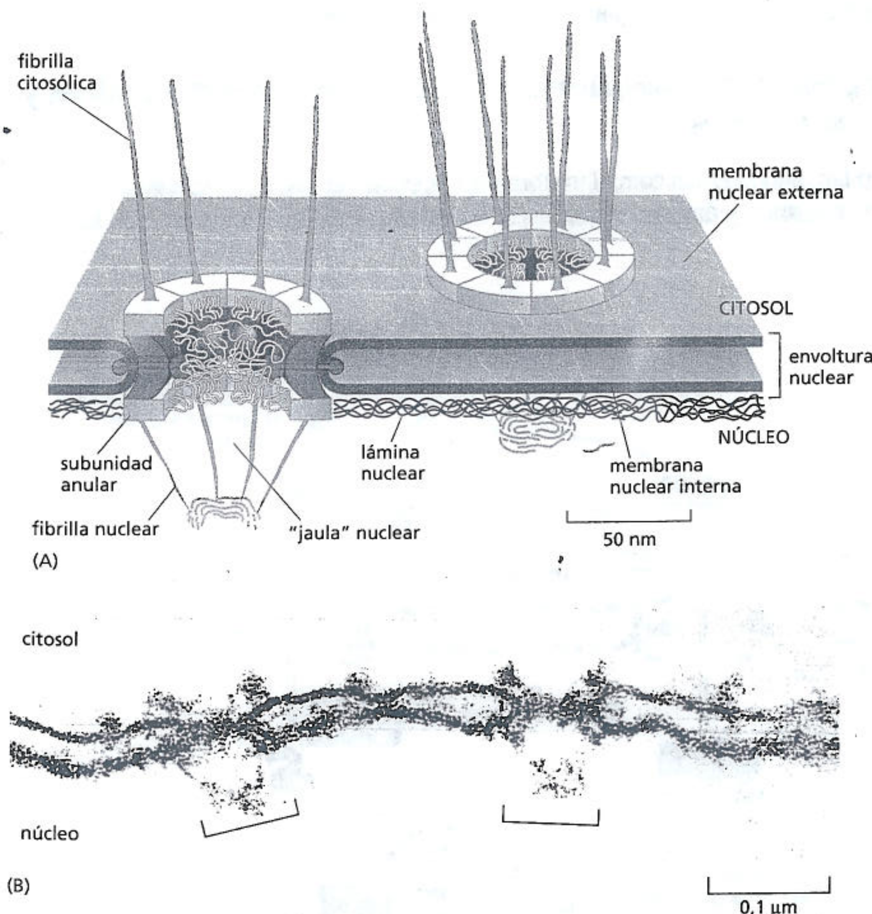




Figura 15-8. El complejo del poro nuclear forma una puerta a través de la cual las moléculas entran y salen del núcleo. (A) Dibujo de una pequeña región de la envoltura nuclear que muestra dos complejos del poro. Cada complejo está compuesto por un gran número de subunidades proteicas diferentes. Las fibrillas proteicas protruyen por ambos lados del complejo; sobre el lado nuclear convergen y forman una estructura similar a una jaula. El espacio entre las fibrillas es bastante amplio como para no obstruir el acceso a los poros. (B) Microfotografía electrónica de una región de la envoltura nuclear que muestra una visión lateral de dos complejos del poro nuclear (corchetes). (C) Microfotografía electrónica que muestra una visión frontal de complejos del poro nuclear; las membranas fueron extraídas con detergente. (B, cortesía de W. Franke; C, cortesía de Ron Milligan).

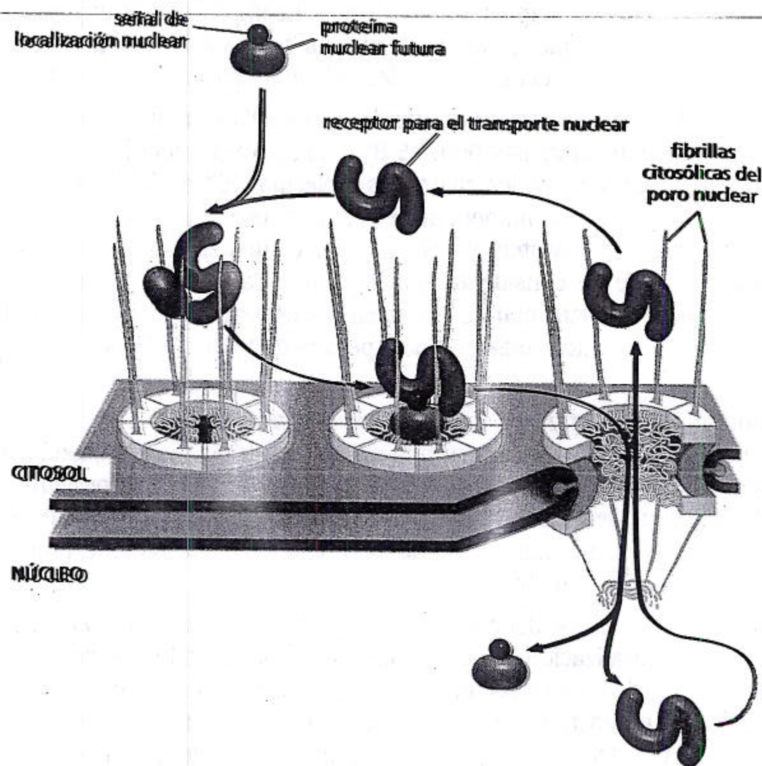


Figura 15-9. Las proteínas destinadas al núcleo se transportan en forma activa a través de los poros nucleares. La proteína nuclear, con su receptor unido, es transportada en forma activa al interior del núcleo. Para mayor claridad no se muestra la estructura de las fibrillas en forma de "jaula" que se extiende al interior del núcleo. Un tipo similar de receptor de transporte, que actúa en forma inversa, exporta los mRNA provenientes del núcleo (véase Fig. 7-20); ambos grupos de receptores tienen una estructura básica similar. El corte transversal que permite ver el interior del complejo de un poro nuclear muestra cómo las regiones no estructuradas de las proteínas que revisten el poro central forman una malla compleja que bloquea la difusión pasiva de moléculas grandes desde y hacia el interior del núcleo.

Los poros nucleares transportan proteínas en su conformación completamente plegada y transfieren los componentes ribosómicos como partículas ensambladas. Esta característica distingue el mecanismo de transporte nuclear de los mecanismos que transportan proteínas hacia otros orgánulos. Las proteínas deben desplegarse durante su transporte a través de las membranas de otros orgánulos, como las mitocondrias, los cloroplastos y el RE, como explicaremos a continuación.

Las proteínas se despliegan e ingresan en las mitocondrias y los cloroplastos

Tanto las mitocondrias como los cloroplastos están cercados por membranas internas y externas, y ambos orgánulos se especializan en la síntesis de ATP. Los clo-

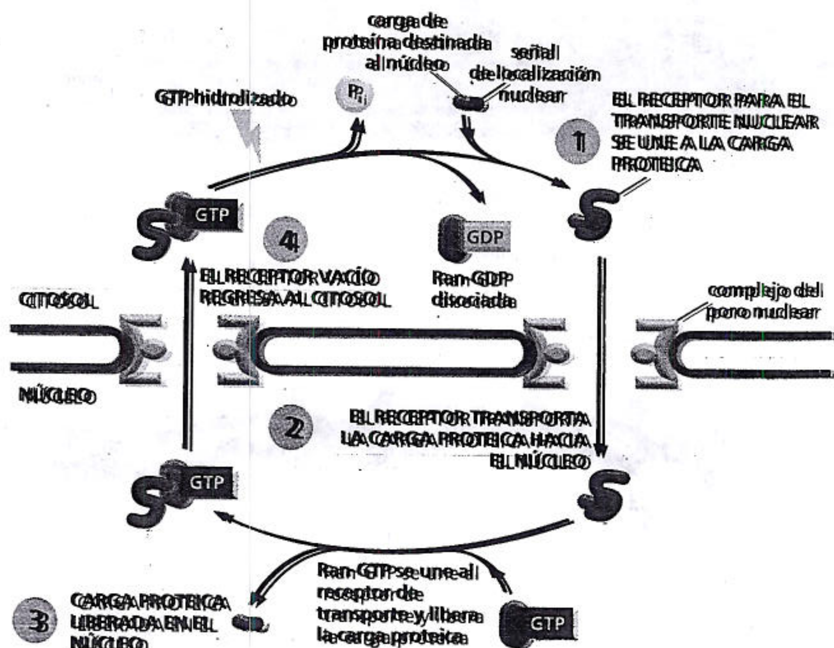


Figura 15-10. La energía aportada por la hidrólisis del GTP impulsa el transporte nuclear. Un receptor de transporte nuclear recoge la carga proteica en el citosol e ingresa al núcleo. Allí, encuentra una proteína pequeña denominada Ran, que transporta una molécula de GTP. Este complejo Ran-GTP se une al receptor de transporte nuclear y se produce la liberación de su carga en el núcleo. A continuación, el receptor nuclear, que aún lleva el complejo Ran-GTP, es transportado de nuevo, a través del poro, al citosol, donde una proteína accesoria (no mostrada) activa la hidrólisis del GTP por la Ran. El complejo Ran-GDP se desprende del receptor de transporte que queda libre para unirse a otra proteína destinada al núcleo. Un ciclo similar actúa en la exportación de los mRNA y otras moléculas grandes desde el núcleo al interior del citosol.

roplastos también contienen un tercer sistema de membranas, la membrana tilacoide (comentada en capítulo 14). Aunque ambos orgánulos contienen sus propios genomas y fabrican sus propias proteínas, casi todas las proteínas de los cloroplastos y de las mitocondrias están codificadas por genes del núcleo y se importan desde el citosol. En general, estas proteínas tienen una secuencia señal en su N-terminal que les permite ingresar en su orgánulo específico. Las proteínas destinadas para cada orgánulo se translocan en forma simultánea a través de la membrana interna y externa en sitios especializados donde las dos membranas se encuentran en contacto entre sí. Cada proteína se despliega a medida que se transporta y se desprende la secuencia señal después de completar la translocación (Fig. 15-11). Las proteínas chaperonas (explicadas en el capítulo 4) dentro de los orgánulos ayudan a atraer a la proteína a través de las dos membranas y replegarla una vez en el interior. El transporte ulterior hacia un sitio particular dentro del orgánulo, como la membrana interna o externa o la tilacoide, suele requerir otras señales de distribución en la proteína, que con frecuencia sólo se exponen después de haber eliminado la primera secuencia señal. La inserción de proteínas transmembrana dentro de la membrana interna, por ejemplo, es guiada por secuencias señal en la proteína que comienzan y detienen el proceso de transferencia a través de la membrana, como describiremos después para la inserción de proteínas transmembrana en la membrana del RE.

¿Por qué las células eucariontes requieren un núcleo como compartimiento separado cuando las células procariontes pueden arreglárselas perfectamente sin él?

El crecimiento y el mantenimiento de las mitocondrias y los cloroplastos requieren no sólo la importación de proteínas nuevas sino también la incorporación de lípidos nuevos en sus membranas. Se considera que la mayoría de los fosfolípidos de sus membranas se importan a partir del RE, que constituye la fuente principal de síntesis lipídica en la célula. Los fosfolípidos se transportan individualmente hacia estos orgánulos por medio de proteínas hidrosolubles transportadoras de lípidos que extraen una molécula de fosfolípido de una membrana y la envían hacia la otra. Estas proteínas aseguran que las diferentes membranas celulares retengan su composición lipídica característica.

Las proteínas ingresan en el retículo endoplasmático mientras se sintetizan

El retículo endoplasmático (RE) es el sistema de membranas más extenso en una célula eucarionte (Fig. 15-12A) y, a diferencia de los orgánulos comentados hasta aquí, actúa como punto de entrada para las proteínas destinadas a otros orgánulos, como también para el RE mismo. Todas las proteínas destinadas al complejo de Golgi, los desmosomas y los lisosomas y las destinadas a la superficie celular, ingresan primero en el RE desde el citosol. Una vez en el interior del RE o incorporadas en su membrana, las proteínas no vuelven a reingresar en el citosol durante su viaje posterior. Serán transferidas por medio de vesículas de transporte de un orgánulo a otro y, en algunos casos, desde un orgánulo hacia la membrana plasmática o hacia el exterior de la célula.

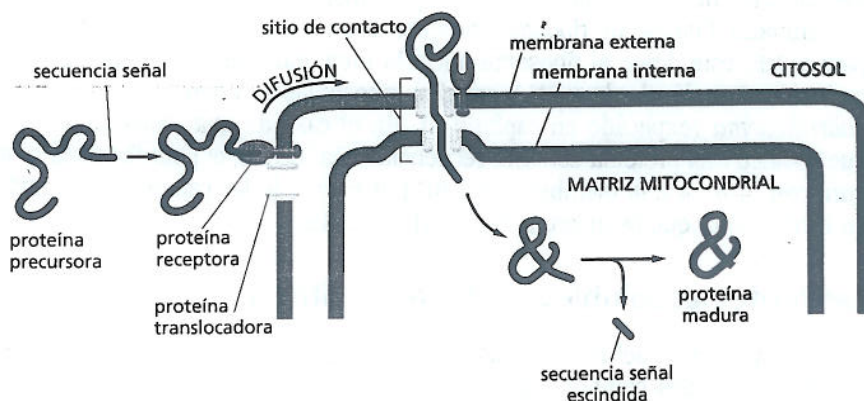
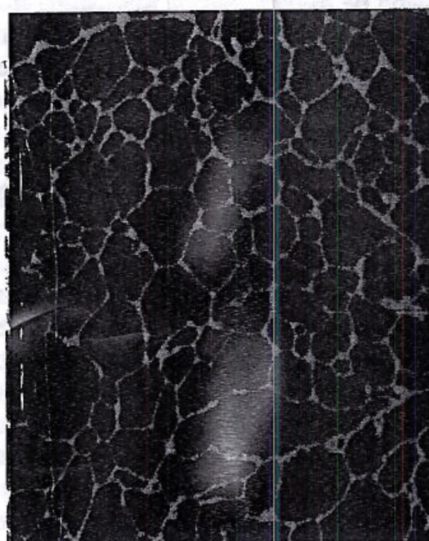


Figura 15-11. Las proteínas se importan al interior de una mitocondria en una forma desplegada. La secuencia señal mitocondrial es reconocida por un receptor en la membrana externa de la mitocondria. El complejo del receptor y la proteína adherida difunde en sentido lateral en la membrana hacia un sitio de contacto donde se transloca la proteína través de las membranas externa e interna por medio de una proteína translocadora (Película 15.2). En el interior del orgánulo una peptidasa señal desprende la secuencia señal. Las proteínas se importan hacia el interior de los cloroplastos por un mecanismo similar. No se muestran las proteínas chaperonas que ayudan a extraer las proteínas a través de las membranas y a que se vuelvan a plegar.



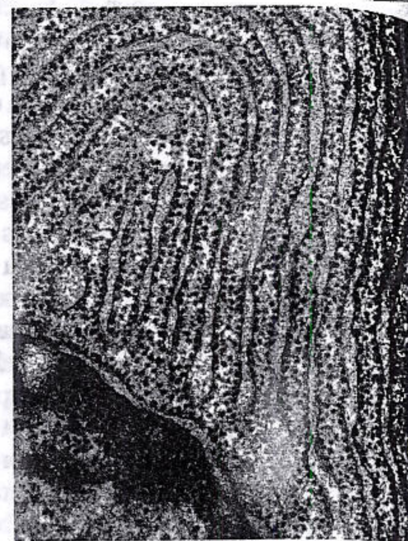


Figura 15-12. El retículo endoplasmático es la red membranosa más extensa de las células eucariontes. (A) Microfotografía por fluorescencia de células vegetales vivas que muestra el RE como una red compleja de láminas y tubos. La célula que se muestra aquí ha sido manipulada por ingeniería genética de modo que contuviera una proteína fluorescente en su RE. (B) Microfotografía electrónica que muestra el RE rugoso en una célula del páncreas de un perro que elabora y secreta grandes cantidades de enzimas digestivas. El citosol se encuentra lleno de láminas de RE empaquetadas en forma apretada, tachonadas de ribosomas. Abajo a la izquierda se observa una porción del núcleo y de su envoltura; nótese que la membrana nuclear externa, que se continúa con el RE, también está tachonada de ribosomas. Para ver una imagen dinámica de la red del RE véase la Película 15.3. (A, cortesía de Jim Haseloff; B, cortesía de Lelio Orci).

Dos clases de proteínas se transfieren desde el citosol hacia el RE: 1) las proteínas hidrosolubles son translocadas por completo a través de la membrana del RE y se liberan en su luz; 2) las proteínas transmembranas futuras son translocadas sólo en parte y quedan incluidas en la membrana del RE. Las proteínas hidrosolubles están destinadas a la secreción (por liberación en la superficie celular) o bien a la luz de un orgánulo; las proteínas transmembrana se destinan a la membrana del RE, a la de otro orgánulo o a la plasmática. Todas estas proteínas son dirigidas en principio hacia el RE por un secuencia señal del RE, un segmento de ocho o más aminoácidos hidrófobos (véase cuadro 15-3, p. 502) que también participa en el proceso de translocación a través de la membrana.

A diferencia de las proteínas que ingresan en el núcleo, las mitocondrias, los cloroplastos y los peroxisomas, la mayoría de las proteínas que entran en el RE comienzan a ser enhebradas a través de la membrana del RE antes de completar la síntesis de la cadena polipeptídica. Esto requiere que el ribosoma que sintetiza la proteína se encuentre adherido a la membrana del RE. Estos ribosomas unidos a la membrana cubren la superficie del RE y crean regiones llamadas **retículo endoplasmático rugoso** debido a su aspecto en forma de cuentas de rosario característico cuando se lo observa al microscopio electrónico (Fig. 15-12B).

En consecuencia, hay dos poblaciones separadas de ribosomas en el citosol. Los *ribosomas unidos a membranas* se hallan adheridos al lado citosólico de la membrana del RE (y la membrana nuclear externa) y elaboran proteínas que son translocadas dentro del RE. Los *ribosomas libres* no están adheridos a ninguna membrana y producen todas las demás proteínas codificadas por el DNA nuclear. Tanto unos como otros son idénticos desde el punto de vista estructural y funcional; se diferencian sólo por el tipo de proteínas que elaboran en un momento determinado. Cuando un ribosoma produce una proteína con una secuencia señal para el RE, éste dirige al ribosoma hacia la membrana del RE. A medida que se traduce una molécula de mRNA, muchos ribosomas se unen a ella y forman un *polirribosoma* (explicado en capítulo 7). En el caso de una molécula de mRNA que codifica una proteína con una secuencia señal de RE, el polirribosoma se asegura con firmeza a la membrana del RE por medio de las cadenas polipeptídicas en crecimiento, que se insertan en ella (Fig. 15-13).

Las proteínas solubles se liberan dentro de la luz del RE

La secuencia señal del RE es guiada hacia la membrana del RE con la ayuda de, por lo menos, dos componentes: 1) una *partícula de reconocimiento de señal*

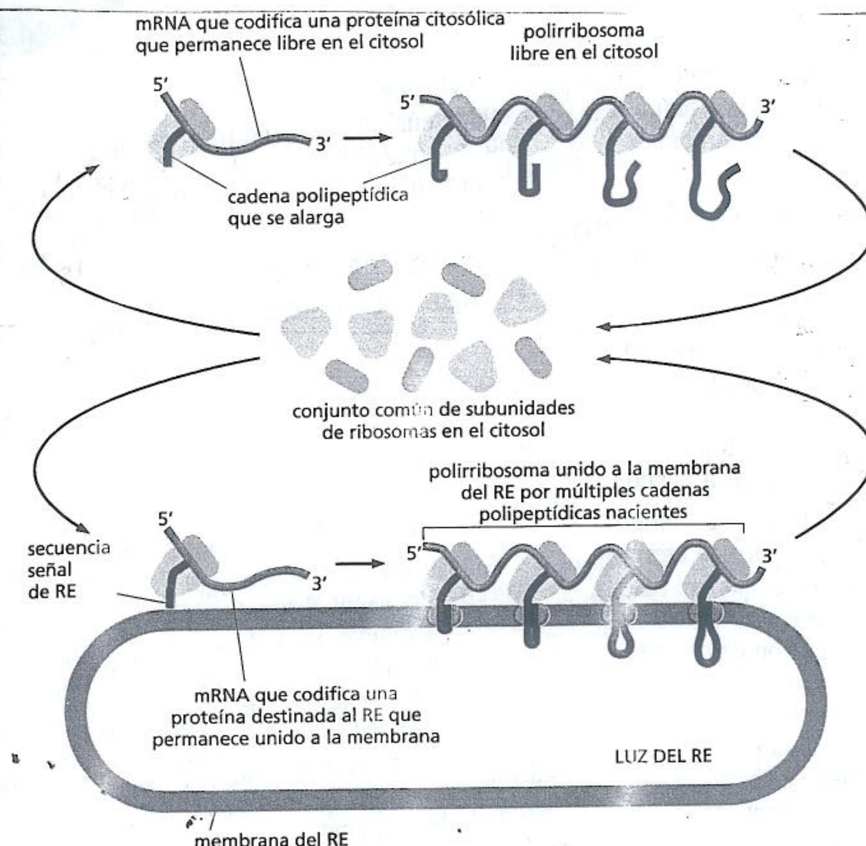


Figura 15-13. La síntesis de las proteínas del citosol y la de los orgánulos delimitados por membranas (entre ellos el RE) ocurre en un conjunto común de ribosomas. Los ribosomas que traducen las proteínas citosólicas permanecen libres en el citosol. En las proteínas destinadas al RE una secuencia señal (*rojo*) sobre la cadena polipeptídica naciente dirige el ribosoma hacia la membrana del RE. Muchos ribosomas se unen a cada molécula de mRNA formando un polirribosoma. Al final de cada ciclo de síntesis proteica las subunidades ribosómicas se liberan y se reúnen con un conjunto común en el citosol.

(SRP; *signal-recognition particle*), presente en el citosol, que se une a la secuencia señal del RE cuando es expuesta sobre el ribosoma; 2) un *receptor SRP*, inmerso en la membrana del RE, que reconoce la partícula. La unión de una SRP a una secuencia señal determina que se retarde la síntesis proteica por parte del ribosoma hasta que éste y la SRP que lleva adherida se fijen a un receptor SRP. Después de la unión con este receptor se libera la SRP y vuelve a comenzar la síntesis; ahora, el polipéptido se abre paso dentro de la luz del RE por intermedio de un *canal de translocación* en la membrana del RE (Fig. 15-14). De este modo, la SRP y su receptor funcionan como promotores moleculares conectando los ribosomas que sintetizan proteínas que contienen secuencias señal con los canales de translocación del RE disponibles.

Además de dirigir las proteínas hacia el RE, la secuencia señal –que para las proteínas solubles está casi siempre en el N-terminal– cumplen la función de abrir el canal de translocación. El péptido señal permanece unido al canal mientras el resto de la cadena proteica es enhebrada a través de la membrana como un bucle grande. En algún momento durante la translocación una peptidasa señal,

PREGUNTA 15-3

Explique cómo una molécula de mRNA puede permanecer adherida a la membrana del RE mientras los ribosomas que la traducen se liberan de ella y se reúnen en el citosol después de cada ciclo de traducción.

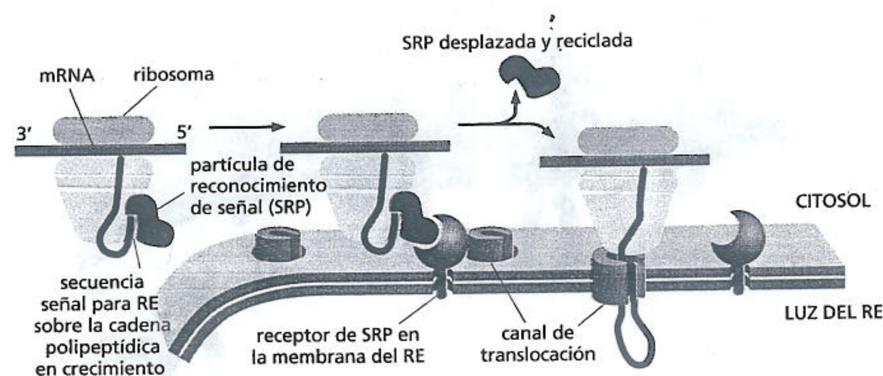


Figura 15-14. Una secuencia señal para RE y una SRP dirigen el ribosoma hacia la membrana del RE. La SRP se une a la secuencia señal expuesta y al ribosoma y, por este motivo, torna más lenta la síntesis proteica. A continuación, el complejo SRP-ribosoma se une al receptor de la SRP en la membrana del RE. Se libera entonces la SRP, en tanto el ribosoma pasa a un canal de translocación proteica en la membrana de RE. Por último, el canal de translocación inserta la cadena polipeptídica en la membrana y comienza a transferirla a través de la bicapa lipídica.

localizada en el lado luminal de la membrana del RE, desprende la secuencia señal; se libera entonces el péptido señal del canal de translocación y se degrada con rapidez a aminoácidos. Una vez que el C-terminal de la proteína pasó a través de la membrana se libera la proteína en la luz del RE (Fig. 15-15).

Las señales de comienzo y de detención determinan la disposición de una proteína transmembrana en la bicapa lipídica

No todas las proteínas que ingresan en el RE son liberadas hacia su luz. Algunas permanecen incluidas en la membrana como proteínas transmembrana. El proceso de translocación de estas proteínas es más complicado que para las solubles ya que algunas partes de la cadena polipeptídica deben translocarse a través de la bicapa lipídica mientras que otras permanecen fijas en ella.

En el caso más simple, el de una proteína transmembrana con un único segmento que permite atravesarla, la secuencia señal N-terminal inicia la translocación, igual que para el caso de una proteína soluble. Pero el proceso de transferencia se detiene por una secuencia agregada de aminoácidos hidrófobos, una secuencia de detención de transferencia, ubicado más adelante en la cadena polipeptídica (Fig. 15-16). Esta segunda secuencia se libera del canal de translocación y se junta en el plano de la bicapa lipídica, donde forma un segmento α-helicoidal que ancla la proteína en la membrana. Al mismo tiempo, la secuencia señal N-terminal también se libera del canal dentro de la bicapa lipídica y se desprende. Como resultado, la proteína translocada finaliza como una proteína transmembrana insertada en la membrana con una orientación definida: el N-terminal sobre el lado luminal de la bicapa y el C-terminal sobre el lado citosólico (véase Fig. 15-16). Como se describió en el capítulo 11, una vez insertada en la membrana, una proteína transmembrana no cambia su orientación, que se mantiene durante cualquier acontecimiento de brote y fusión vesicular ulterior.

En algunas proteínas transmembrana hay una secuencia señal interna, en lugar de N-terminal, que comienza la transferencia proteica; esta secuencia señal interna, llamada secuencia de comienzo de transferencia, nunca se elimina del polipéptido. Esta disposición se presenta en algunas proteínas transmembrana en las que la cadena polipeptídica pasa varias veces a través de la bicapa lipídica. En estos casos se considera que las secuencias señal hidrófobas actúan de a pares: una secuencia de comienzo de transferencia interna inicia la translocación, que continúa hasta que se alcanza la secuencia de detención de transferencia; luego se liberan las dos secuencias hidrófobas en la bicapa, donde permanecen como hélices α que abarcan todo el espesor de la membrana (Fig. 15-17). En las proteínas complejas de pasos múltiples, en las que muchas hélices α se extienden en la bicapa, participan pares adicionales de secuencias de comienzo y de detención: una

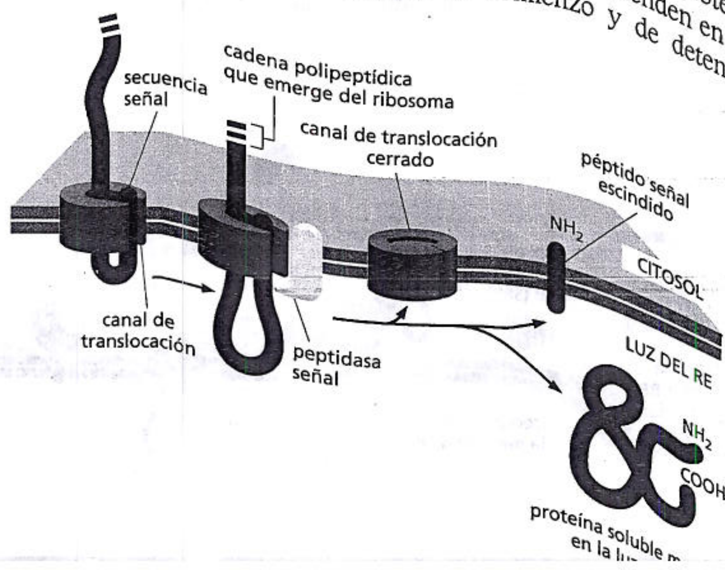


Figura 15-15. Una proteína soluble cruza la membrana del RE e ingresa en la luz. La secuencia señal se une a un canal de translocación proteico y transfiere activamente el resto del polipéptido a través de la bicapa lipídica como un bucle. En algún punto durante el proceso de translocación una peptidasa escinde el péptido señal de la proteína en crecimiento. El canal de translocación abre y eyecta entonces la secuencia señal escindida dentro de la bicapa, donde se degrada. Se libera el péptido translocado como una proteína soluble dentro de la luz del RE. Una vez liberada la proteína se cierra el poro del canal de translocación. Para mayor claridad, aquí y en las dos figuras siguientes se omitió el ribosoma unido a la membrana.

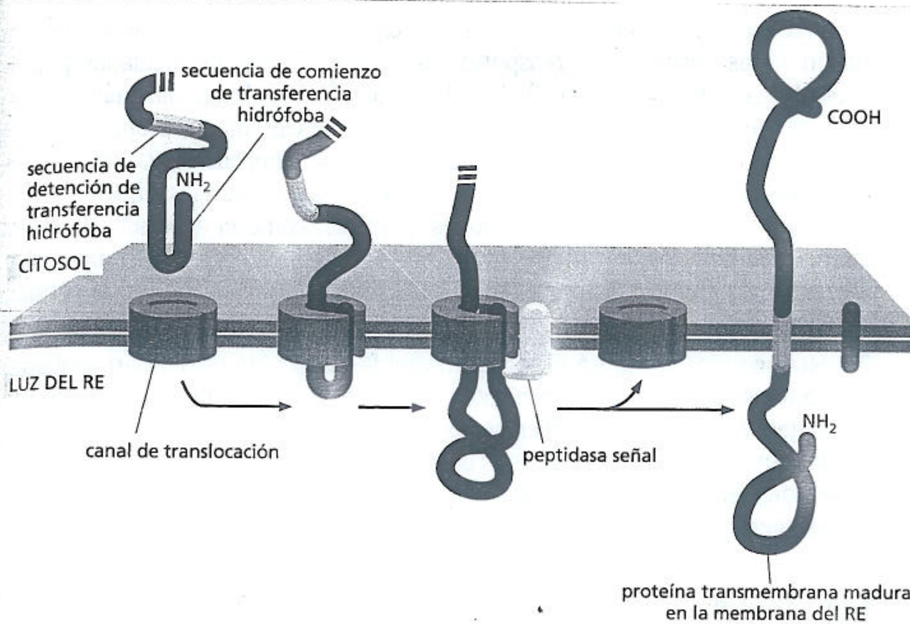


Figura 15-16. Una proteína transmembrana de paso único se integra en la membrana del RE. Una secuencia señal N-terminal para RE (*rojo*) inicia la transferencia como en la Figura 15-15. Además, la proteína contiene también una segunda secuencia hidrófoba, una secuencia de detención de transferencia (*anaranjado*). Cuando esta secuencia ingresa en el canal de translocación, éste descarga la proteína por los laterales en la bicapa lipídica. La secuencia señal N-terminal se escinde y deja la proteína transmembrana anclada en la membrana (Película 15.4). La síntesis proteica sobre el lado citosólico continúa hasta completarse.

secuencia reinicia la translocación más adelante en la cadena polipeptídica y otra la detiene y provoca la liberación del polipéptido y así sucesivamente para las secuencias subsiguientes. De esta manera, las proteínas de membrana de pasos múltiples quedan hilvanadas dentro de la bicapa lipídica a medida que son sintetizadas por un mecanismo que semeja el funcionamiento de una máquina de coser.

Así, ya se examinó cómo ingresan las proteínas en la luz del RE o quedan incluidas en su membrana. A continuación explicaremos cómo se trasladan por medio del transporte vesicular.

PREGUNTA 15-4

A. Prediga la orientación en la membrana de una proteína que se sintetiza con una secuencia señal interna no eliminada (se muestra como secuencia de comienzo de transferencia, en rojo en la figura 15-17) pero que no contiene un péptido de detención de transferencia.
B. Del mismo modo, prediga la orientación en la membrana de una proteína que se sintetiza con una secuencia señal N-terminal eliminada, seguida por una secuencia de detención de transferencia, seguida por una secuencia de comienzo de transferencia.
C. ¿Qué disposición de secuencias señal le permitiría la inserción de una proteína de pasos múltiples con un número impar de segmentos transmembrana?

TRANSPORTE VESICULAR

El ingreso en el RE suele ser sólo el primer paso de un camino hacia otros destinos. Ese destino, al menos al comienzo, es el complejo de Golgi. El transporte desde el RE hacia el complejo de Golgi y desde éste hacia otros compartimientos

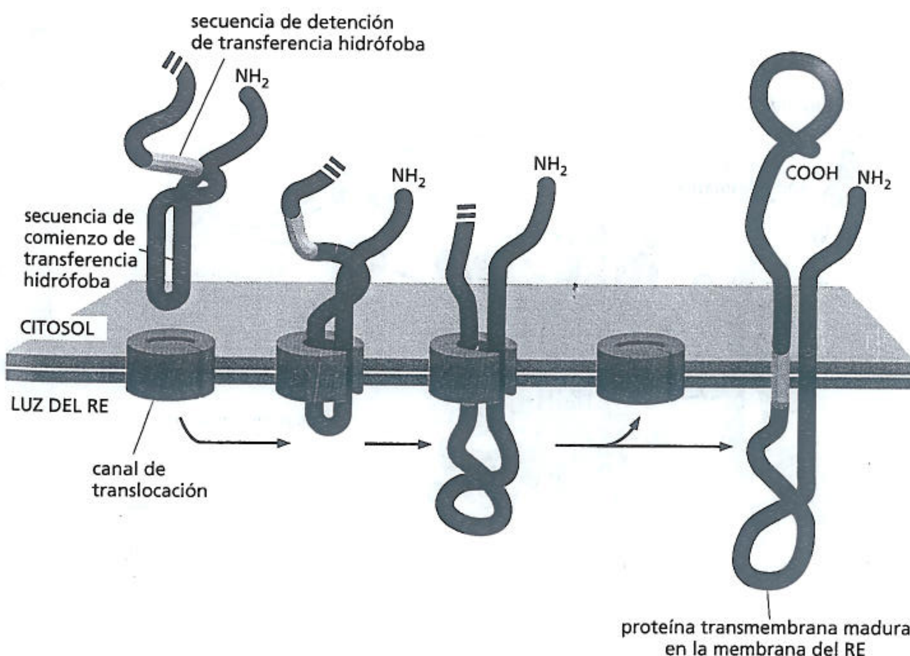


Figura 15-17. Una proteína transmembrana de paso doble emplea una secuencia de comienzo de transferencia interna al integrarse en la membrana del RE. Una secuencia señal interna del RE (*rojo*) actúa como una señal de comienzo de transferencia e inicia la transferencia de la cadena polipeptídica. Como la secuencia señal N-terminal para el RE, esta señal interna se reconoce por medio de una SRP que lleva el ribosoma hacia la membrana del RE (no presentada). Cuando en el canal de translocación ingresa una secuencia de detención de transferencia (*anaranjado*), el canal descarga ambas secuencias dentro del plano de la bicapa lipídica. No se escinde la secuencia de comienzo de transferencia ni la de detención y la cadena polipeptídica entera permanece anclada en la membrana como una proteína transmembrana de paso doble. Las proteínas que atraviesan más veces la membrana contienen un mayor número de pares de secuencias de detención y comienzo, por lo que se repite el mismo proceso en cada par.

del sistema de endomembranas se lleva a cabo por medio del brote continuo y la fusión de las **vesículas de transporte**. Las vías de transporte mediadas por estas vesículas se extienden hacia afuera del RE hasta la membrana plasmática y, hacia adentro, desde esta última hacia los lisosomas; de este modo, proporcionan vías de comunicación entre el interior de la célula y sus alrededores. Como las proteínas y los lípidos se transportan hacia el exterior por estas vías, muchos de ellos sufren diversos tipos de modificaciones químicas, como el agregado de cadenas laterales de hidratos de carbono (tanto en las proteínas como en los lípidos) y la formación de puentes disulfuro (en los polipéptidos) que estabilizan la estructura proteica.

En esta sección se explicó el modo en que las vesículas trasbordan proteínas y membranas entre los compartimientos celulares, lo que permite que las células se alimenten y segreguen. También se consideró cómo son conducidas estas vesículas de transporte hacia sus destinos correspondientes, sea en el RE, en el complejo de Golgi, en la membrana plasmática o en algún otro compartimiento delimitado por membranas.

Las vesículas de transporte conducen proteínas solubles y de membrana entre los compartimientos

El **transporte vesicular** entre los compartimientos delimitados por membranas del sistema de endomembranas está muy organizado. Una de las vías secretoras principales hacia el exterior comienza con la biosíntesis de proteínas sobre la membrana del RE y su ingreso en el RE, y continúa a través del complejo de Golgi hasta la superficie celular; en el complejo de Golgi, una rama lateral las conduce por los endosomas hasta los lisosomas (Fig. 15-18). Una de las *vías endocíticas* principales hacia el interior, que determina la ingestión y la degradación de las moléculas extracelulares, moviliza los materiales desde la membrana plasmática, a través de los endosomas, hacia los lisosomas.

Para funcionar en forma correcta, cada vesícula de transporte que brota desde un compartimiento debe tomar de éste sólo las proteínas apropiadas para su destino y fusionarse sólo con la membrana de destino adecuada. Una vesícula que transporta una carga procedente del complejo de Golgi hacia la membrana plasmática, por ejemplo, debe excluir las proteínas que tienen que permanecer en el complejo y se debe fusionar con la membrana plasmática y no con cualquier otro orgánulo. En

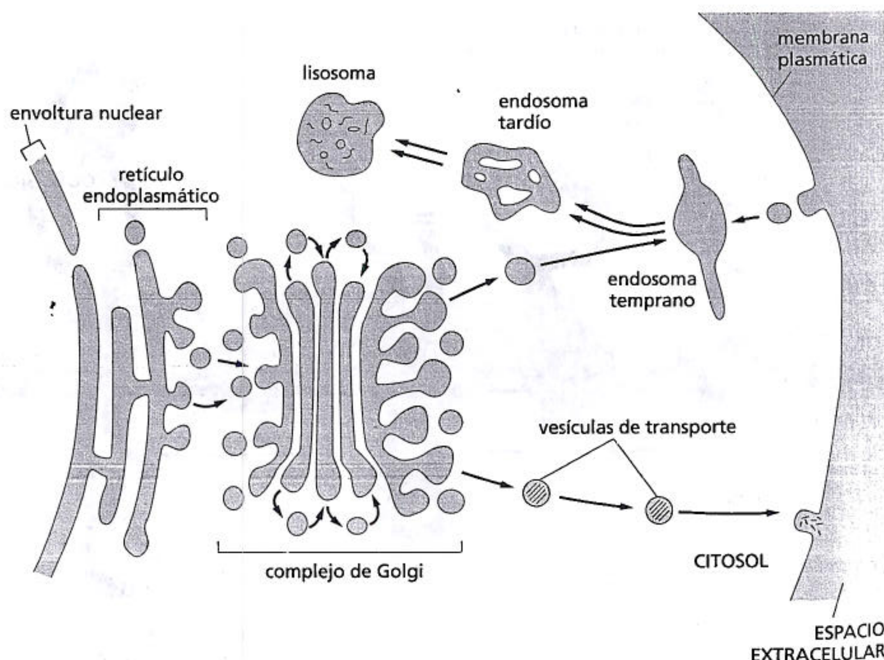
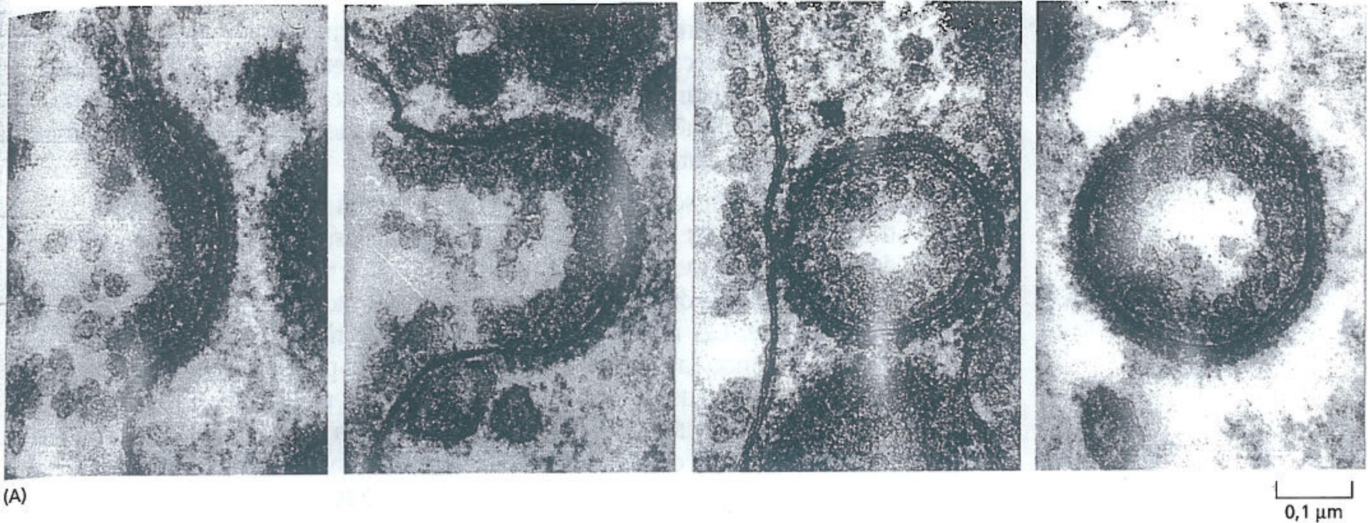


Figura 15-18. Las vesículas brotan de una membrana y se fusionan con otra; transportan los componentes de la membrana y las proteínas solubles entre los compartimientos celulares. Cada compartimiento encierra un espacio, o luz, que es equivalente desde el punto de vista topológico al exterior de la célula (Fig. 11-19). Como se muestra, el espacio extracelular y cada compartimiento delimitado por una membrana (sombreado en *gris*) se comunican entre sí por medio de vesículas de transporte. En la vía secretoria externa (flechas *rojas*) las moléculas proteicas se transportan desde el RE, a través del complejo de Golgi, hacia la membrana plasmática o (por medio de los endosomas tardíos) hacia los lisosomas. En la vía endocítica interna (flechas *verdes*), vesículas derivadas de la membrana plasmática ingieren moléculas extracelulares y las envían a los endosomas tempranos y luego (por medio de los endosomas tardíos) a los lisosomas.



(A) 0,1 µm

(B) 0,2 µm

Figura 15-19. Las moléculas de clatrina forman jaulas similares a canastas que ayudan a dar a las membranas la forma de vesículas. (A) Las microfotografías electrónicas muestran la secuencia de acontecimientos en la formación de una vesícula recubierta con clatrina a partir de una fosa. Las fosas y las vesículas recubiertas con clatrina que se muestran aquí son inusualmente grandes y se forman en la membrana plasmática de un oocito de gallina. Participan en la captación de partículas formadas por lípidos y proteínas dentro del oocito, que forman el huevo. (B) Microfotografía electrónica que muestra numerosas depresiones y vesículas recubiertas con clatrina que brotan de la superficie interna de la membrana plasmática de células cultivadas de la piel. (A, cortesía de M.M. Perry y A.B. Gilbert, *J. Cell Sci.* 39:257-272, 1979. Con autorización de The Company of Biologists; B, de J. Heuser, *J. Cell Biol.* 84:560-583, 1980. Con autorización de Rockefeller University Press).

tanto participa en este flujo constante de componentes membranosos, cada orgánulo debe mantener su identidad propia, es decir, su composición proteica y lipídica distintiva. Todos estos procesos de reconocimiento dependen de las proteínas asociadas con la membrana de las vesículas de transporte. Como se verá, los diferentes tipos de vesículas de transporte van y vienen entre los diversos orgánulos y cada uno lleva un conjunto de moléculas distinto.

La brotación de la vesícula está inducida por el ensamblado de la cubierta proteica

Por lo general las vesículas que brotan de las membranas tienen una cubierta proteica característica en su superficie citosólica y, por lo tanto, se denominan **vesículas recubiertas**. Después de brotar de su orgánulo que le dio origen, la vesícula se deshace de su cubierta y permite que su membrana interactúe directamente con la membrana con la que se debe fusionar. Las células producen diferentes clases de vesículas recubiertas, cada una con una cubierta proteica característica. Se considera que la cubierta cumple al menos dos funciones: da forma de brote a la membrana y ayuda a capturar moléculas para el posterior transporte.

Las vesículas mejor estudiadas son las que tienen las cubiertas compuestas sobre todo por la proteína **clatrina**. Estas vesículas recubiertas con clatrina emergen del complejo de Golgi en su vía secretora hacia el exterior y a partir de la membrana plasmática en su camino endocítico hacia el interior. En la membrana plasmática, por ejemplo, cada vesícula comienza como una *fosa recubierta por clatrina*. Las moléculas de clatrina se ensamblan y forman una red del tipo de una canasta sobre la superficie citosólica de la membrana y este proceso de ensamblado es el que empieza a darle forma de vesícula (Fig. 15-19). Una proteína pequeña que se une al GTP, denominada *dinamina*, se ajusta como un anillo alrededor del cuello de cada fosa recubierta profundamente invaginada. Junto con otras proteínas reunidas alrededor del cuello de la vesícula, la dinamina produce la constricción del anillo y por lo tanto el desprendimiento de la vesícula de la membrana. Otras clases de vesículas de transporte, con diferentes cubiertas proteicas, participan tam-

bién en el transporte vesicular. Se forman de una manera similar y llevan conjuntos de moléculas característicos entre el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi y la membrana plasmática. Pero, ¿cómo selecciona un transporte vesicular su carga específica? Este mecanismo se conoce mejor en el caso de las vesículas recubiertas con clatrina.

La clatrina por sí sola no participa en la captura de moléculas específicas para el transporte. Ésta es la función de una segunda clase de cubiertas proteicas llamadas *adaptinas*, que por un lado afirman la cubierta de clatrina a la membrana vesicular y, por el otro, ayudan a seleccionar las moléculas que deben cargar para su transporte. Las moléculas que se transportarán conducen señales específicas que son reconocidas por los *receptores de carga* presentes en la membrana del compartimiento. Las adaptinas ayudan a capturar moléculas de carga específicas al atrapar los receptores a los que se unen. De esta manera, se incorpora un conjunto seleccionado de moléculas de carga, unidas a sus receptores específicos, en la luz de cada vesícula recubierta por clatrina de reciente formación (Fig. 15-20). Existen por lo menos dos clases de adaptinas: las que se unen a los receptores de carga en la membrana plasmática son diferentes de las que se unen a los receptores de carga en el complejo de Golgi, lo que refleja las diferencias en la carga de cada una de estas fuentes. Una clase diferente de vesículas recubiertas, llamada vesícula recubierta COP (COP es la abreviatura de *coat protein*, "cubierta proteica"), está comprometida en el transporte de moléculas entre el RE y el complejo de Golgi y de una parte de este último hacia otra (Cuadro 15-4).

El acoplamiento vesicular depende de las proteínas de reconocimiento inicial y de las SNARE

Después de que una vesícula de transporte brota de una membrana debe encontrar el camino a su destino correcto y entregar su contenido. En la mayoría de los casos la vesícula es transportada en forma activa por proteínas motoras que se mueven a lo largo de las fibras del citoesqueleto, como se comenta en el capítulo 17.

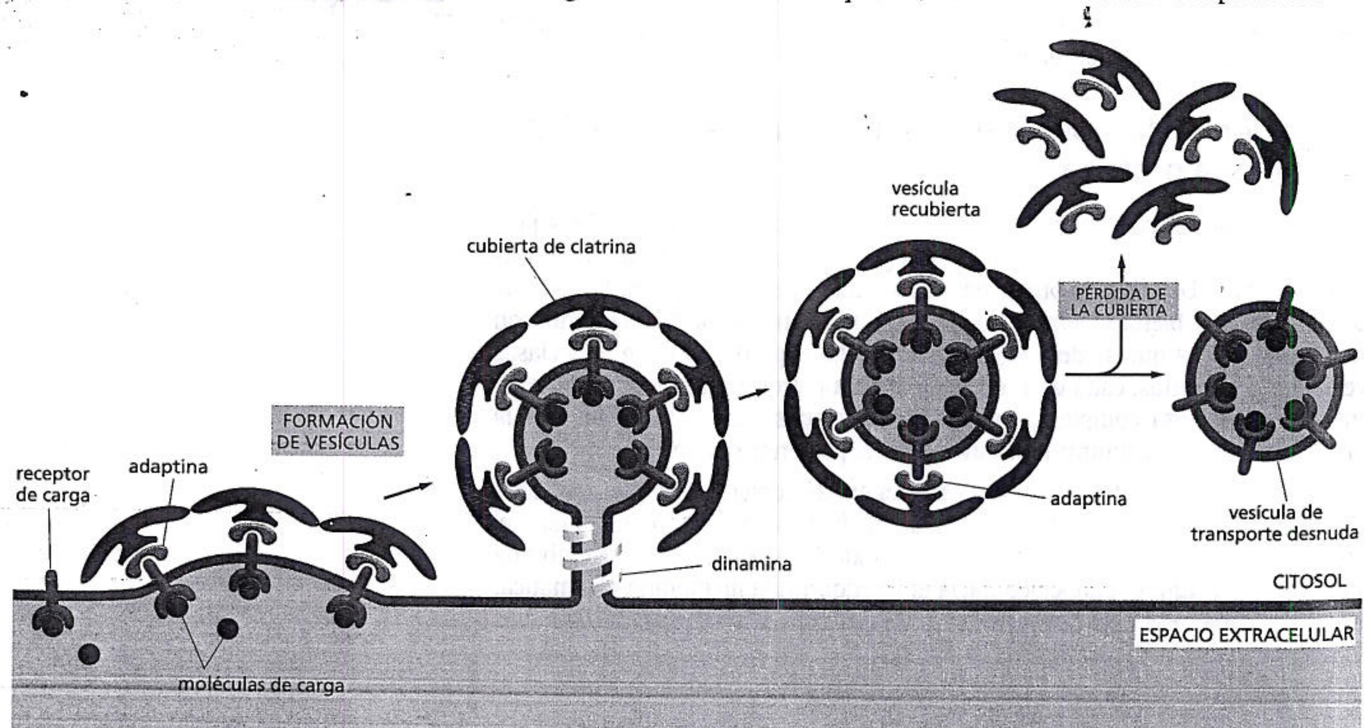


Figura 15-20. Vesículas recubiertas con clatrina transportan moléculas de carga seleccionadas. Los receptores de carga, con sus moléculas de carga unidas a ellos, son capturados por las adaptinas, que también unen las moléculas de clatrina a la superficie citosólica de la vesícula que brota (Película 15.5). Las moléculas de la proteína dinamina se ensamblan alrededor del cuello de estas vesículas; una vez ensambladas, estas moléculas hidrolizan el GTP que tienen unido y, con la ayuda de otras proteínas reclutadas en el área, desprenden la vesícula. Después de completar el brote, se eliminan las cubiertas proteicas y la vesícula desnuda se puede fusionar con su membrana diana. Cubiertas proteicas de similar función se encuentran en otros tipos de vesículas recubiertas.

CUAD[illegible]GUNOS TIPOS DE VESÍCULAS RECUBIERTAS

TIPO DE VESÍCULA	PROTEÍNA DE LA CUBIERTA	ORIGEN	DESTINO
Recubierta con clatrina	clatrina + adaptina 1	complejo de Golgi	lisosoma (vía endosomas)
Recubierta con clatrina	clatrina + adaptina 2	membrana plasmática	endosomas
Recubierta con COP	proteínas COP	RE cisterna de Golgi complejo de Golgi	complejo de Golgi cisterna de Golgi RE

Cuando alcanzó su objetivo, la vesícula de transporte debe reconocer y acoplarse con el orgánulo. Sólo entonces puede fusionarse con la membrana diana y descargar su contenido. La impresionante especificidad de la vesícula de transporte sugiere que cada una de ellas despliega sobre su superficie marcadores moleculares que la identifican de acuerdo con su origen y carga. Estos marcadores deben ser reconocidos por receptores complementarios presentes en la membrana apropiada, incluida la membrana plasmática. Este proceso de identificación depende de una familia de proteínas denominadas **proteínas Rab**. Estas proteínas, ubicadas sobre la superficie de la vesícula, son reconocidas por las *proteínas de reconocimiento inicial (tethering proteins)* que se encuentran sobre la superficie citosólica de la membrana diana. Cada orgánulo y cada tipo de vesícula de transporte tiene una combinación única de proteínas Rab, que actúan como marcadores que identifican cada tipo de membrana. Este sistema de codificación de Rab y las proteínas de reconocimiento inicial ayudan a asegurar que las vesículas de transporte se fusionen sólo con la membrana correcta. El reconocimiento adicional lo provee una familia de proteínas transmembrana relacionadas conocidas como **SNARE**. Una vez que la proteína de reconocimiento inicial ha capturado a una vesícula mediante la sujeción de su proteína Rab, las SNARE sobre la vesícula (denominadas v-SNARE) interactúan con las SNARE complementarias presentes sobre la membrana diana (llamadas t-SNARE) y acoplan la vesícula en el lugar (Fig. 15-21).

Una vez que la vesícula de transporte reconoce su membrana diana y se acopla a ella debe fusionarse y entregar su carga. La fusión no sólo permite entregar el contenido de la vesícula en el interior del orgánulo, sino que también agrega la membrana vesicular a la membrana del orgánulo. Sin embargo, la fusión de las membranas no siempre se continúa en forma inmediata con el acoplamiento; a menudo espera una señal molecular específica. Mientras que el acoplamiento requiere sólo que las dos membranas se acerquen lo suficiente para que interactúen las proteínas que protruyen de las dos bicapas lipídicas, la fusión requiere una aproximación mayor: las dos bicapas deben encontrarse dentro del 1,5 nm

PREGUNTA 15-5

Se puede observar el brote de las vesículas recubiertas con clatrina desde fragmentos de membrana plasmática de células eucariontes cuando se agregan adaptinas, clatrina y dinamina-GTP a la preparación de membrana. ¿Qué observaría si omitiera A) adaptinas, B) clatrina o C) dinamina? D) ¿Qué observaría si los fragmentos de la membrana plasmática fueran de una célula procarionte?

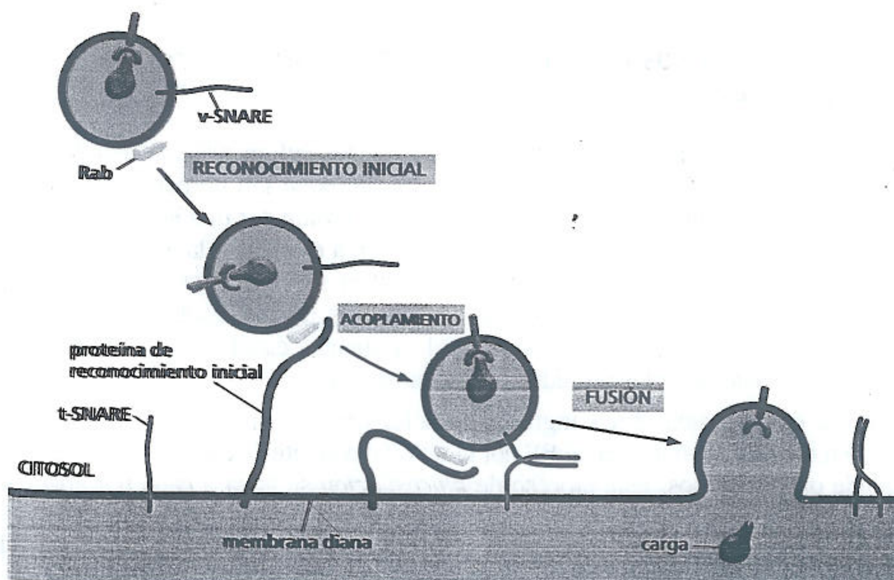


Figura 15-21. Las proteínas Rab y las SNARE ayudan a dirigir las vesículas de transporte a sus membranas diana. Una proteína filamentosa de reconocimiento inicial sobre una membrana se une a una proteína Rab localizada en la superficie de una vesícula. Esta interacción permite a la vesícula acoplarse sobre la membrana diana. Una proteína v-SNARE sobre la vesícula se une a una t-SNARE complementaria sobre la membrana diana. Mientras que Rab y las proteínas de reconocimiento inicial permiten el reconocimiento inicial entre una vesícula y su membrana diana, el apareamiento de SNARE complementarias también ayudan a asegurar que las vesículas de transporte alcancen las membranas diana correspondientes.

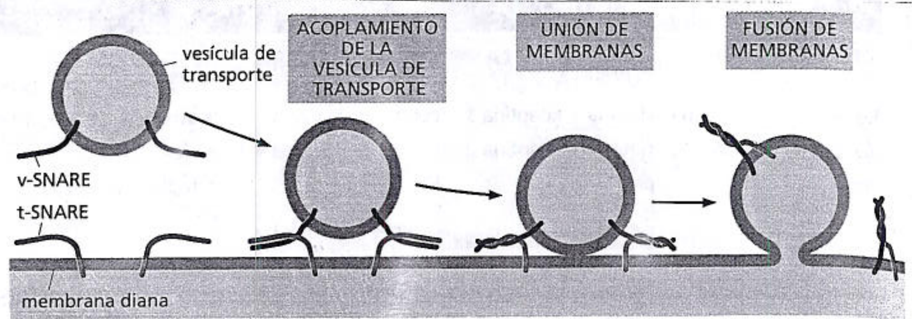


Figura 15-22. Las proteínas SNARE desempeñan una función central en la fusión de las membranas. El apareamiento de las v-SNARE con las t-SNARE fuerza a las dos bicapas lipídicas a una aposición estrecha. La fuerza de las SNARE en conjunto extrae todas las moléculas de agua que permanecen atrapadas entre las dos membranas y permite que sus lípidos fluyan juntos formando una bicapa lipídica continua. En una célula es posible que otras proteínas reclutadas en el sitio de fusión cooperen con las SNARE e inicien esta fusión. Proteínas adicionales ayudan a apartar las SNARE de modo que puedan ser usadas de nuevo.

una de otra para que sus lípidos puedan entremezclarse. Esta aproximación se logra al desplazar al agua de la superficie hidrófila de la membrana –un proceso que es altamente desfavorable desde el punto de vista energético y, por eso, impide que las membranas se fusionen al azar–. En consecuencia, las fusiones de membranas en todas las células deben estar catalizadas por proteínas especializadas que se ensamblan en el sitio de fusión formando un complejo de fusión, que proporciona los medios para cruzar esta barrera de energía. Se considera que las proteínas SNARE en sí desempeñan una función central en el proceso de fusión: después de aparearse, la v-SNARE y la t-SNARE se enrollan entre sí y actúan como un torniquete que tira de las dos membranas acercándolas (Fig. 15-22).

VÍAS SECRETORAS

El tránsito vesicular no está confinado al interior de la célula. Se extiende hacia la membrana plasmática y desde ella. Las proteínas, los lípidos y los hidratos de carbono recién fabricados se envían desde el RE, por el complejo de Golgi, hasta la superficie celular por medio de vesículas de transporte que se fusionan con la membrana plasmática en un proceso denominado **exocitosis**. Cada molécula que viaja a lo largo de esta vía pasa a través de una secuencia fija de compartimientos delimitados por membranas y con frecuencia sufre modificaciones químicas durante su marcha.

En esta sección seguimos la vía de las proteínas hacia el exterior a medida que viajan desde el RE, donde se elaboran y modifican, a través del complejo de Golgi, donde se modifican aun más y se distribuyen, hasta la membrana plasmática. A medida que la proteína pasa de un compartimiento a otro, se controla si se ha plegado en forma apropiada y si se ha ensamblado con sus acompañantes adecuados, de modo que se liberan en la superficie celular sólo las proteínas fabricadas correctamente, mientras que las otras se degradan en la célula.

La mayoría de las proteínas son modificadas en forma covalente en el RE

La mayoría de las proteínas que ingresan en el RE sufren allí una modificación química. Los *puentes disulfuro* se forman por la oxidación de pares de cadenas laterales de cisteína (Fig. 4-26), una reacción catalizada por una enzima que reside en la luz del RE. Los puentes disulfuro ayudan a estabilizar la estructura de las proteínas que puedan encontrar modificaciones en el pH y las enzimas de degradación en el exterior de la célula, ya sea después de segregadas o de haberse incorporado en la membrana plasmática. Los puentes disulfuro no se forman en el citosol debido al ambiente reductor que existe allí.

Muchas de las proteínas que ingresan en la luz del RE o en su membrana se convierten en glucoproteínas en el RE por la unión covalente de cadenas laterales cortas de oligosacáridos. Este proceso de *glucosilación* se lleva a cabo por enzimas específicas que se encuentran en el RE pero no en el citosol. Sólo algunas proteínas sufren glucosilación en el citosol y las que lo hacen tienen un único azúcar adherido. Los oligosacáridos en las proteínas tienen varias funciones según la pro-

teína; pueden protegerla de la degradación y retenerla en el RE hasta que sea plegada correctamente o ayudan a guiarla hasta el orgánulo apropiado al actuar como señal de transporte de modo de empaquetarla en las vesículas de transporte correspondientes. Cuando se exponen sobre la superficie celular, los oligosacáridos forman parte de la capa de hidratos de carbono de la célula (Fig. 11-35) y pueden intervenir en el reconocimiento de una célula por otra.

En el RE no se agregan los azúcares a la proteína uno a uno para crear la cadena lateral de oligosacáridos. En cambio, se fija en bloque un oligosacárido ramificado, preformado, que contiene un total de 14 azúcares, a todas las proteínas que tienen sitios adecuados de glucosilación. El oligosacárido se adhiere por primera vez a un lípido especializado, llamado *dolicol*, presente en la membrana del RE; después éste se transfiere al grupo amino (NH_2) de una cadena lateral de asparagina sobre la proteína, inmediatamente después de que la asparagina diana emerge en la luz del RE durante la translocación de la proteína (Fig. 15-23). Este agregado tiene lugar en un único paso enzimático catalizado por una enzima unida a la membrana (una oligosacárido proteína transferasa) que tiene su sitio activo expuesto sobre el lado luminal de la membrana del RE, lo que explica por qué las proteínas citosólicas no son glucosiladas de este modo. Una secuencia simple de tres aminoácidos, de los cuales la asparagina es uno, define qué residuos de asparagina de la proteína reciben el oligosacárido. Se dice que las cadenas laterales de oligosacáridos ligadas con un grupo NH_2 de asparagina en una proteína, están *N-ligadas* y representan por lejos el tipo más común de ligaduras encontradas en las glucoproteínas.

El agregado de un oligosacárido de 14 azúcares en el RE constituye sólo el primer paso de una serie de modificaciones posteriores antes de que emerja la glucoproteína madura en el otro extremo de la ruta hacia el exterior. Pese a su similitud inicial, los oligosacáridos *N*-ligados de las glucoproteínas maduras son notablemente diversos. Toda la diversidad proviene de las modificaciones de la estructura precursora presentada en la figura 15-23. Este procesamiento del oligosacárido comienza en el RE y continúa en el complejo de Golgi.

PREGUNTA 15-6

¿Por qué podría ser ventajoso adicionar un bloque preformado de 14 residuos de azúcares a una proteína en el RE, más que construir las cadenas de azúcares paso a paso sobre la superficie de la proteína por medio de la adición sucesiva de azúcares por enzimas individuales?

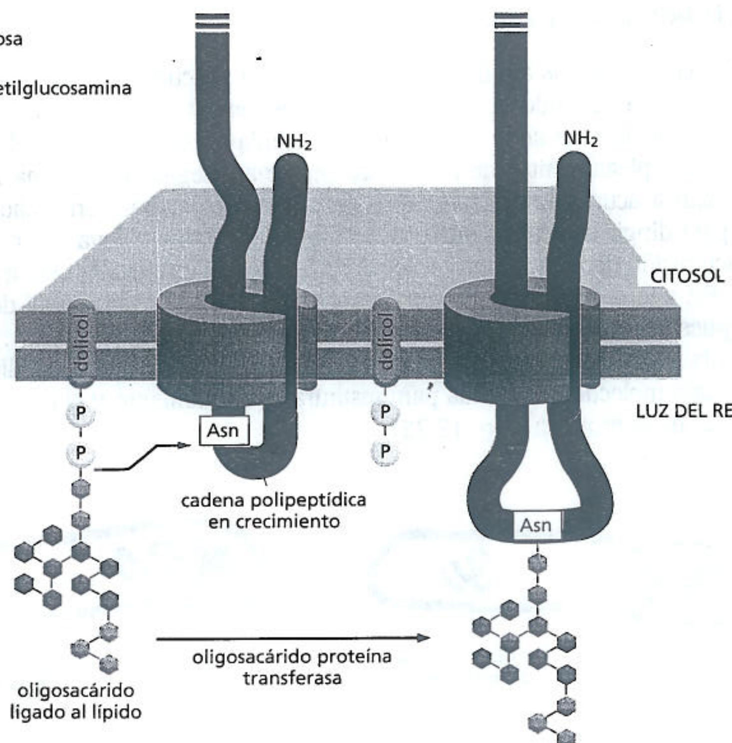


Figura 15-23. Muchas proteínas son glucosiladas en el RE. Casi tan pronto como la cadena polipeptídica ingresa en la luz del RE se glucosila por el agregado de cadenas laterales de oligosacáridos a determinadas asparaginas del polipéptido. Cada cadena de oligosacárido se transfiere a la asparagina como una unidad intacta, a partir de un lípido llamado dolicol; esta reacción es catalizada por la enzima oligosacaril transferasa (no mostrada). Las asparaginas que se glucosilan están siempre presentes en las secuencias tripeptídicas asparagina- X-serina o asparagina-X-treonina, donde X puede ser cualquier aminoácido.

El control de la salida del RE garantiza la calidad de la proteína

Algunas proteínas elaboradas en el RE están destinadas a funcionar allí. Se retienen en el RE (y son regresadas a éste cuando se escapan hacia el complejo de Golgi) por medio de una secuencia C-terminal de cuatro aminoácidos denominada *señal de retención en el RE* (véase cuadro 15-3, p. 502), que es reconocida por una proteína receptora de membrana en el RE y el complejo de Golgi. Sin embargo, la mayoría de las proteínas que ingresan en el RE están destinadas a otras localizaciones; son empaquetadas en vesículas de transporte que brotan del RE y se fusionan con el complejo de Golgi. La salida del RE, sin embargo, es muy selectiva. Las proteínas que se pliegan en forma incorrecta y las diméricas o multiméricas que no logran ensamblarse en forma adecuada, se retienen activamente en el RE por medio de su unión con las *proteínas chaperonas* que residen allí. La interacción con las proteínas chaperonas mantiene a las proteínas en el RE hasta que se produce el plegamiento apropiado; si esto no sucede, las proteínas finalmente son degradadas (Fig. 15-24). Las moléculas de anticuerpos, por ejemplo, están compuestas por cuatro cadenas polipeptídicas (Fig. 4-29) que se ensamblan en una molécula de anticuerpo completa dentro del RE. Los anticuerpos ensamblados en forma parcial se retienen en el RE hasta que se acoplan las cuatro cadenas polipeptídicas; cualquier anticuerpo que no complete correctamente este proceso es finalmente degradado. En este sentido el RE controla la calidad de las proteínas que exporta hacia el complejo de Golgi.

A veces, sin embargo, este mecanismo de control de calidad puede ser perjudicial para el organismo. La principal mutación que provoca la enfermedad genética común, *fibrosis quística*, que causa una degeneración intensa del pulmón, por ejemplo, produce una proteína de transporte de la membrana plasmática que se encuentra mal plegada; aun cuando la proteína mutante podría actuar normalmente como un canal de cloruro si alcanzara la membrana plasmática, se retiene en el RE dando origen a consecuencias graves. La devastación que produce la enfermedad no está causada porque la mutación inactiva una proteína importante sino porque las células descartan la proteína activa antes de darle la oportunidad para actuar.

El tamaño del RE es controlado por la cantidad de proteína que fluye a través de él

Si bien las chaperonas ayudan en el plegamiento adecuado del RE y retienen al que no lo hace, cuando la síntesis es vigorosa el sistema puede ser superado. Cuando la producción de la proteína de una célula excede la capacidad del transporte (y del plegamiento) de su RE, las proteínas plegadas en forma incorrecta comienzan a acumularse. Estas proteínas aberrantes actúan, en realidad, como señal para dirigir la célula a que produzca más RE. Esto se lleva a cabo mediante la activación de un conjunto especial de receptores que residen en la membrana del RE que, a su vez, activa un extenso programa transcripcional denominado **respuesta a proteínas desplegadas** (**UPR**; *unfolded protein response*). Este programa da lugar a que la célula produzca más RE, que incluye la totalidad de la maquinaria molecular requerida para restaurar el plegamiento y el procesamiento adecuado de la proteína (Fig. 15-25).

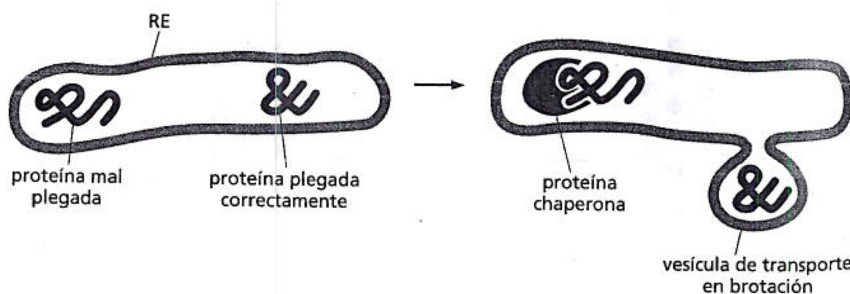


Figura 15-24. Las chaperonas previenen que las proteínas mal plegadas o ensambladas en forma parcial abandonen el RE. Las proteínas mal plegadas se unen a las proteínas chaperonas en la luz del RE y por eso quedan retenidas, mientras que las que están plegadas normalmente se trasladan en vesículas de transporte hacia el complejo de Golgi. Si las proteínas mal plegadas no pueden volver a plegarse en forma adecuada, se las transporta hacia el citosol, donde se degradan.

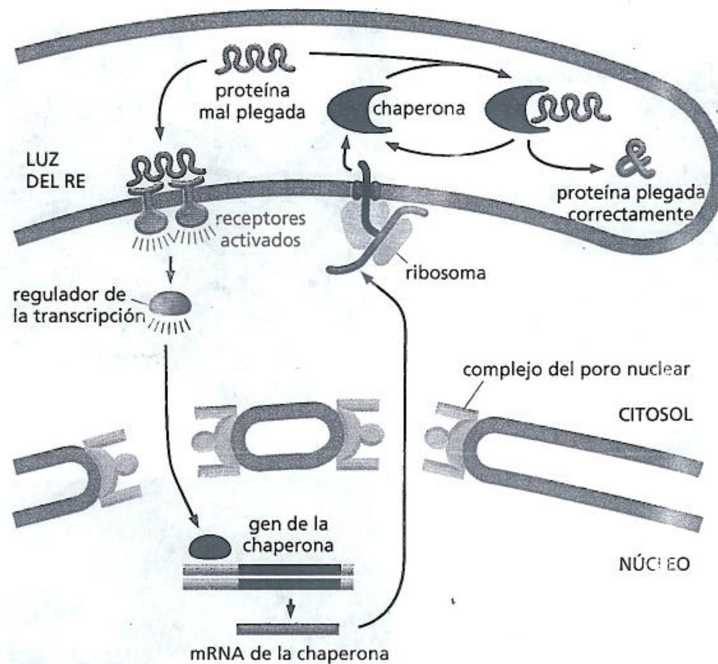


Figura 15-25. Las proteínas mal plegadas en la luz del RE activan la producción de chaperonas y la expansión del RE. Las proteínas mal plegadas se unen a receptores que estimulan la producción de un regulador de la transcripción. Esta proteína se transloca al núcleo donde activa a genes que codifican chaperonas y otros componentes del RE, que así favorecen el plegamiento y el procesamiento adecuados de las proteínas. Al sistema se lo conoce como respuesta a proteínas desplegadas.

El programa UPR permite que las células ajusten el tamaño del RE de acuerdo con las necesidades, de modo que la carga de proteínas que ingresa a la vía secretora será plegada de manera eficaz y adecuada. Sin embargo, en algunos casos incluso un RE expandido puede tornarse sobrecargado. Si no puede restablecerse un equilibrio adecuado, y continúa la acumulación de proteínas plegadas de manera incorrecta, el programa UPR puede impulsar a la célula a su autodestrucción por apoptosis. Esta situación es la que puede causar la diabetes de comienzo en la edad adulta en la que los tejidos del cuerpo se tornan gradualmente resistentes a los efectos de la insulina. A medida que se estimula a las células secretoras de insulina del páncreas a producir más y más insulina, su RE puede alcanzar su capacidad máxima hasta el punto en que se torna imposible desde una perspectiva fisiológica una mayor expansión. Entonces, el programa UPR puede activar la muerte celular. Lamentablemente, a medida que se eliminan las células secretoras de insulina la demanda para producir más insulina disminuirá en las células supervivientes, que exige más a su RE y determina que con más probabilidad éstas también se destruyan. Esta pérdida escalonada de células productoras de insulina exacerba la enfermedad.

Las proteínas se modifican y se distribuyen aun más en el complejo de Golgi

El **complejo de Golgi** suele localizarse cerca del núcleo y, en las células animales, con frecuencia se encuentra cerca del centrosoma, una estructura pequeña próxima al centro de la célula. Está formado por sacos aplanados delimitados por membranas (*cisternas*), que están dispuestos como pilas de platos. Cada pila contiene de 3 a 20 cisternas (Fig. 15-26). El número de pilas de Golgi por célula varía en gran medida de acuerdo con el tipo de célula: algunas células pequeñas contienen una pila larga mientras que otras contienen cientos de pilas muy pequeñas.

Cada pila de Golgi tiene dos caras distintas: una de entrada o *cis* y una de salida o *trans*. La cara *cis* se halla adyacente al RE, mientras que la *trans* apunta hacia la membrana plasmática. La cisterna más externa de cada cara se conecta con una red de tubos y vesículas membranosas interconectados (Fig. 15-26A). Las proteínas solubles y de membrana ingresan en la red *cis* de Golgi por medio de las vesículas de transporte derivadas desde el RE. Las proteínas viajan a través de las cisternas en sucesión por medio de vesículas de transporte que brotan de una cisterna y se fusionan con la siguiente. Las proteínas salen desde la red *trans de Golgi*

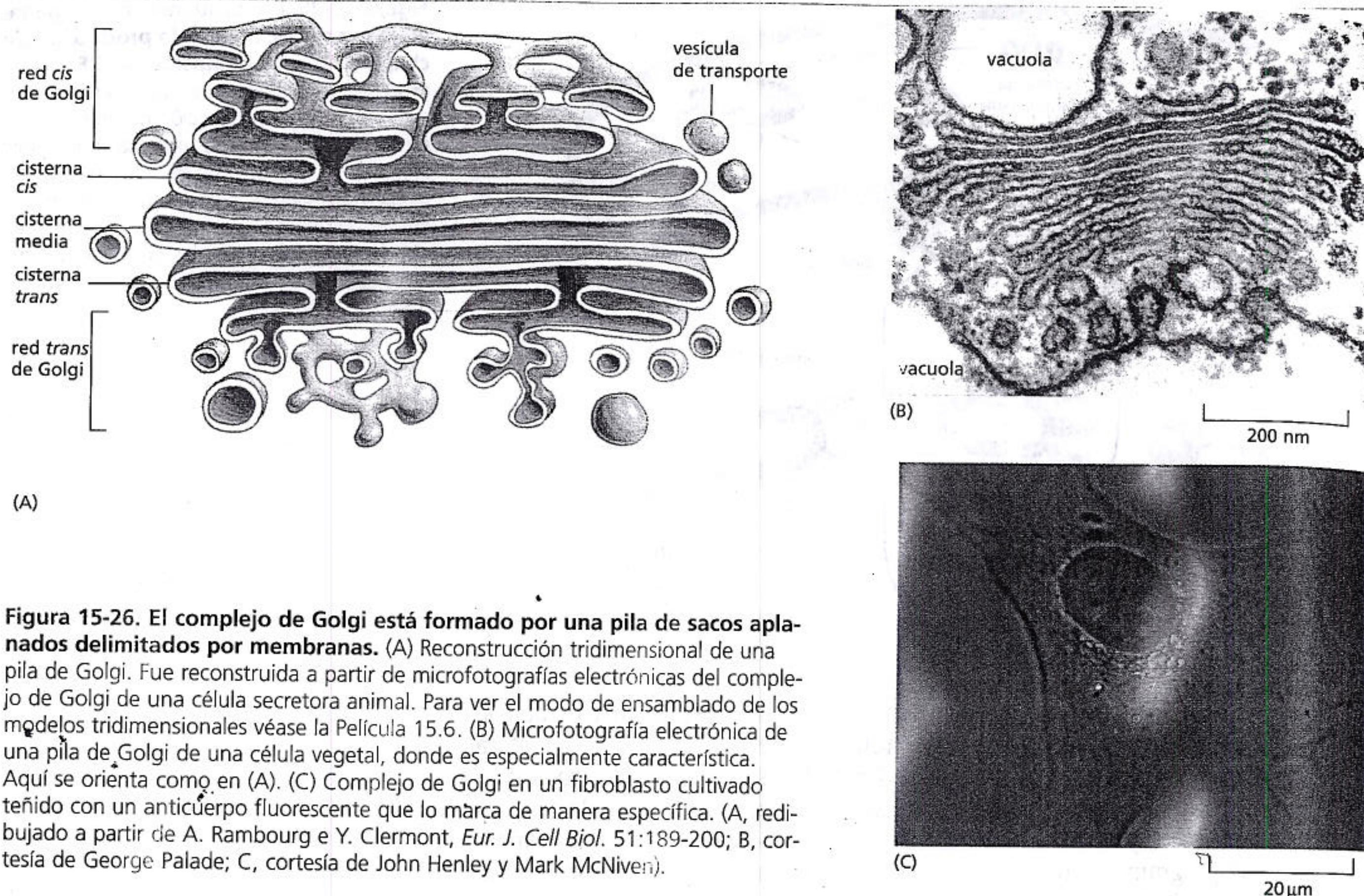


Figura 15-26. El complejo de Golgi está formado por una pila de sacos aplanados delimitados por membranas. (A) Reconstrucción tridimensional de una pila de Golgi. Fue reconstruida a partir de microfotografías electrónicas del complejo de Golgi de una célula secretora animal. Para ver el modo de ensamblado de los modelos tridimensionales véase la Película 15.6. (B) Microfotografía electrónica de una pila de Golgi de una célula vegetal, donde es especialmente característica. Aquí se orienta como en (A). (C) Complejo de Golgi en un fibroblasto cultivado teñido con un anticuerpo fluorescente que lo marca de manera específica. (A, redibujado a partir de A. Rambourg e Y. Clermont, *Eur. J. Cell Biol.* 51:189-200; B, cortesía de George Palade; C, cortesía de John Henley y Mark McNiven).

en vesículas de transporte destinadas a la superficie celular o a otro compartimiento (Fig. 15-18). Se considera que tanto la red *cis* como la red *trans* de Golgi son importantes para distribuir las proteínas: las proteínas que ingresan en la red *cis* pueden moverse a través de las pilas de Golgi o, si contienen una señal de retención en el RE, regresar al RE; las proteínas que salen de la red *trans* se distribuyen según si están destinadas a los lisosomas o a la superficie celular. Más adelante se presentarán algunos ejemplos de distribución por la red *trans* de Golgi y se mostrarán algunos de los métodos de rastreo de las proteínas a través de las vías secretoras de la célula en la sección Biología experimental, pp. 520-521.

Muchos de los grupos de oligosacáridos que se agregan a las proteínas en el RE sufren modificaciones posteriores en el complejo de Golgi. Por ejemplo, en algunas proteínas se crean cadenas complejas de oligosacáridos a través de un proceso sumamente ordenado en el que se agregan y se quitan azúcares por medio de una serie de enzimas que actúan en una secuencia determinada en forma estricta a medida que la proteína pasa a través de la pila de Golgi. Existe una correlación bien definida entre la posición de la enzima en la cadena del proceso de acontecimientos y su localización en la pila de Golgi: las enzimas que actúan más temprano se encuentran en las cisternas cercanas a la cara *cis*, mientras que las que actúan más tarde se ubican próximas a la cara *trans*.

Las proteínas secretoras se liberan de la célula por exocitosis

En todas las células eucariontes existe una corriente constante de vesículas que brotan de la red *trans* de Golgi y se fusionan con la membrana plasmática. Esta *vía de exocitosis constitutiva* opera en forma continua y aporta lípidos y proteínas recién elaborados a la membrana plasmática (Película 15.7); es la vía por la cual la membrana plasmática crece cuando las células se agrandan antes de dividirse. La vía constitutiva también lleva proteínas a la superficie celular que se liberan al exterior, un proceso denominado **secreción**. Algunas de estas proteínas libe-

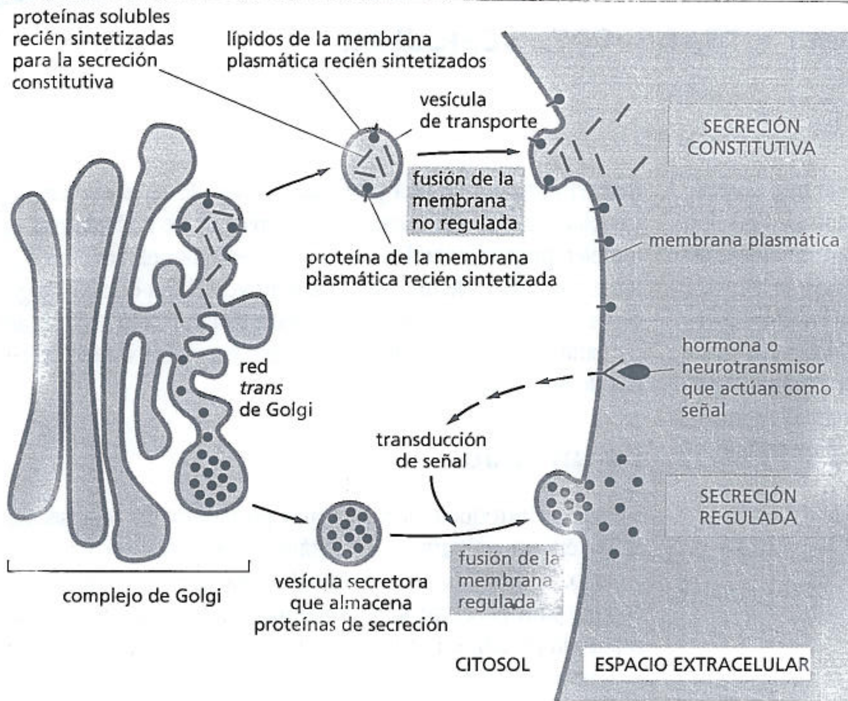


Figura 15-27. En las células secretoras las vías reguladas y constitutivas de la exocitosis divergen en la red *trans* de Golgi. La célula segrega continuamente muchas proteínas solubles por medio de su vía secretoria constitutiva, que opera en todas las células (Película 15.8). Esta vía también aporta en forma continua lípidos y proteínas recién sintetizados a la membrana plasmática. Las células secretoras especializadas tienen, además, una vía de exocitosis regulada, por la cual se derivan proteínas seleccionadas de la red *trans* de Golgi hacia las vesículas secretoras, donde se concentran y se almacenan hasta que una señal extracelular estimule su secreción. No está claro cómo se segregan los cúmulos de proteínas en las vesículas secretoras. Estas vesículas tienen proteínas únicas en sus membranas; quizá algunas de ellas actúen como receptores de los cúmulos de proteínas secretoras en la red *trans* de Golgi.

radas se adhieren a la superficie celular, donde se convierten en proteínas periféricas de la membrana plasmática; algunas se incorporan en la matriz extracelular mientras que otras difunden en el líquido extracelular donde nutren o señalizan otras células. Debido a que la entrada en esta vía no selectiva no requiere ninguna secuencia señal en particular (como las que dirigen las proteínas hacia los lisosomas o de vuelta hacia el RE), a veces se la denomina *vía por defecto*.

Además de la vía de exocitosis constitutiva, que opera en forma continua en todas las células eucariontes, existe una *vía de exocitosis regulada*, que funciona sólo en las células especializadas en la secreción. Las *células secretoras* especializadas producen grandes cantidades de productos particulares, como hormonas, moco o enzimas digestivas, que se almacenan en las **vesículas secretoras** para su liberación posterior. Estas vesículas brotan de la red *trans* de Golgi y se acumulan cerca de la membrana plasmática. Esperan allí la señal extracelular que las estimula a fusionarse con la membrana plasmática y liberar su contenido al exterior (Fig. 15-27). Por ejemplo, un aumento en la glucosa sanguínea da la señal a las células del páncreas para que segreguen la hormona insulina (Fig. 15-28).

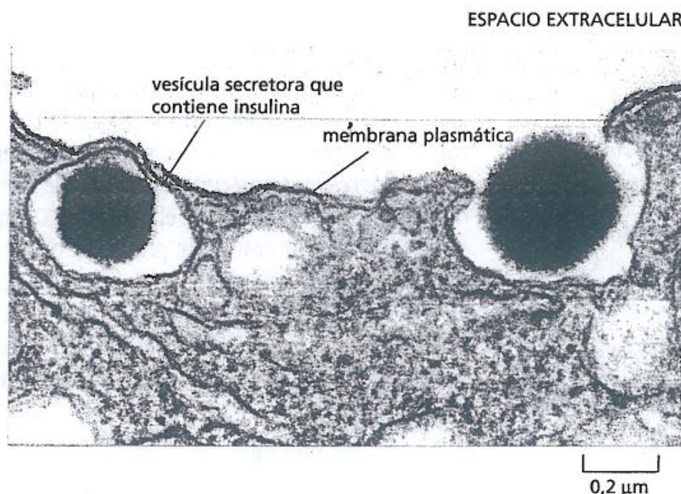


Figura 15-28. Las vesículas secretoras empaquetan y descargan cúmulos concentrados de proteínas. La microfotografía electrónica muestra la liberación de insulina en el espacio extracelular a partir de una vesícula secretoria de una célula β pancreática. La insulina se almacena en una forma altamente concentrada en cada vesícula secretora y se libera sólo cuando la célula recibe la señal de segregar por un aumento de las concentraciones de glucosa en la sangre. (Cortesía de Lelio Orci, de L. Orci, J. D. Vassalli y A. Perrelet, *Sci. Am.* 256:85-94, 1988. Con autorización de Scientific American).

RASTREO DE LAS PROTEÍNAS Y TRANSPORTE VESICULAR

A lo largo de los años los biólogos han aprovechado una diversidad de técnicas para esclarecer las vías y los mecanismos por los que se distribuyen y se transportan las proteínas dentro y fuera de las células y de sus orgánulos residentes. Como vimos, la transferencia de una secuencia señal del RE a una proteína citosólica permitió a los investigadores confirmar que esos péptidos señal marcan las proteínas de un determinado compartimiento intracelular (en este ejemplo, el RE; véase Fig. 15-6). Pero estos experimentos de cambio de señales no representan la única manera de rastrear el progreso de una proteína a través de la célula. Las técnicas bioquímicas, genéticas, microscópicas y de biología molecular también proporcionan los medios para estudiar el modo en que las proteínas viajan de un compartimiento celular a otro. En algunos casos se emplean estos métodos para rastrear la migración de las proteínas y de las vesículas de transporte en tiempo real en el interior de las células vivientes.

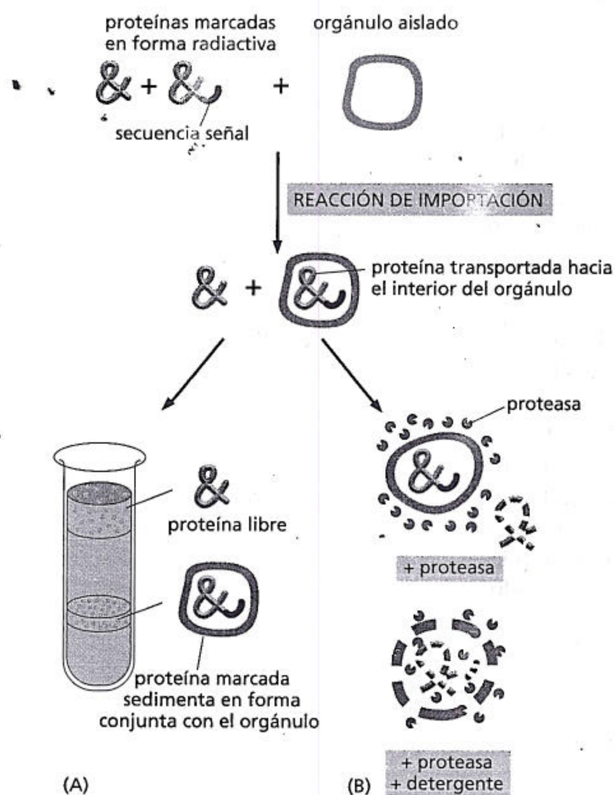


Figura 15-29. Existen varios métodos para determinar si una proteína portadora de una secuencia señal determinada es transportada hacia un preparado de orgánulos aislados. (A) Se incuba la proteína marcada con una secuencia señal o sin ella junto con los orgánulos y se centrifuga el preparado. Sólo serán transportadas las proteínas marcadas que contienen una secuencia señal y, por lo tanto, se separarán con el orgánulo. (B) Se incuban las proteínas marcadas con el orgánulo y se añade una proteasa al preparado. La proteína transportada estará protegida selectivamente de la digestión por la proteasa; al agregar un detergente que rompa la membrana del orgánulo se eliminará la protección y la proteína transportada también se degradará.

En un tubo

Se puede introducir una proteína portadora de una secuencia señal en un preparado de orgánulos aislados en un tubo de ensayo. A continuación, se pueden realizar pruebas sobre esta mezcla para observar si los orgánulos que se desean investigar captan la proteína. Por lo general, la proteína se produce in vitro por medio de traducción fuera de la célula de un mRNA purificado que codifica el polipéptido; en el proceso se pueden emplear aminoácidos radiactivos para marcar la proteína de manera que sea fácil aislarla y seguirla. La proteína marcada se incuba con el orgánulo seleccionado y se monitoriza su translocación por medio de uno de varios métodos diferentes (Fig. 15-29).

Pregunte a una levadura

Se han estudiado extensamente los movimientos de las proteínas entre los diferentes compartimientos celulares a través de vesículas de transporte mediante el empleo de técnicas genéticas. En estudios sobre células mutantes de levadura incapaces de segregar a temperaturas elevadas se identificaron más de 25 genes que codifican proteínas sensibles a la temperatura implicadas en el transporte y la secreción. Estas proteínas mutantes pueden funcionar normalmente a 25°C, pero cuando las levaduras se llevan a 35°C, se inactivan. Como resultado, cuando los investigadores elevan la temperatura, las proteínas destinadas a la secreción se acumulan de manera inapropiada en el RE, el complejo de Golgi o las vesículas de transporte (Fig. 15-30).

En las películas

Quizá el método más espectacular para rastrear una proteína a medida que se moviliza a lo largo de la célula consiste en marcar al polipéptido con una proteína fluorescente verde (GFP, *green fluorescent protein*). Por medio de las técnicas de ingeniería genética comentadas en el capítulo 10 esta pequeña proteína se puede fusionar con otras proteínas celulares. Por fortuna, en el caso de la mayoría de las proteínas estudiadas, el agregado de la GFP no altera el funcionamiento normal o el transporte de la molécula. Se puede vigilar el movimiento de una proteína marcada con la GFP en una célula viviente con un microscopio de fluorescencia.

El uso de las proteínas de fusión GFP está muy difundido para estudiar la localización y el movimiento de las proteínas en las

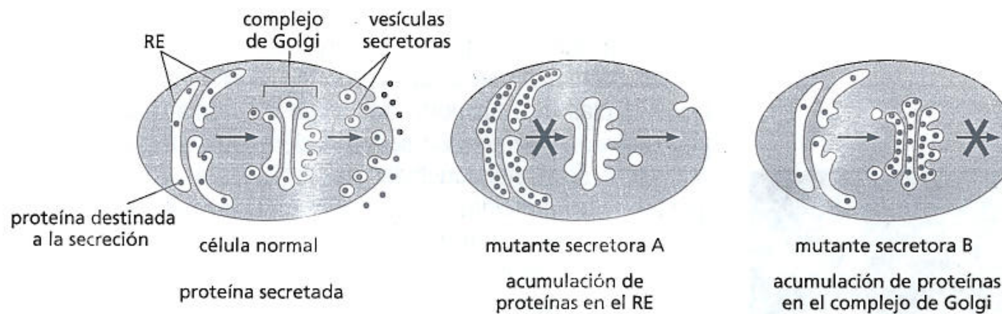


Figura 15-30. Se emplean mutantes sensibles a la temperatura para analizar minuciosamente la vía secretora en la levadura. Las mutaciones en los genes implicados en diferentes etapas del proceso de transporte conducen a la acumulación de proteínas en el RE, el complejo de Golgi u otras vesículas de transporte. Por ejemplo, una mutación A que interrumpa el transporte desde el RE hasta el complejo de Golgi causará la acumulación de proteínas en el RE. Una mutación B que interrumpa la salida de las proteínas desde el complejo de Golgi producirá la acumulación de proteínas dentro de ese orgánulo.

células (Fig. 15-31). Las GFP fusionadas a proteínas que se transportan hacia adentro o afuera del núcleo, por ejemplo, pueden usarse para estudiar los acontecimientos del transporte nuclear. Las GFP fusionadas a las proteínas de la membrana plasmática son útiles para medir la cinética de su movimiento a través de la vía secretora. En el DVD que acompaña este libro se incluyen las películas que muestran las posibilidades y la belleza de esta técnica (**Películas 15.1, 15.7, 15.8 y 15.11**).

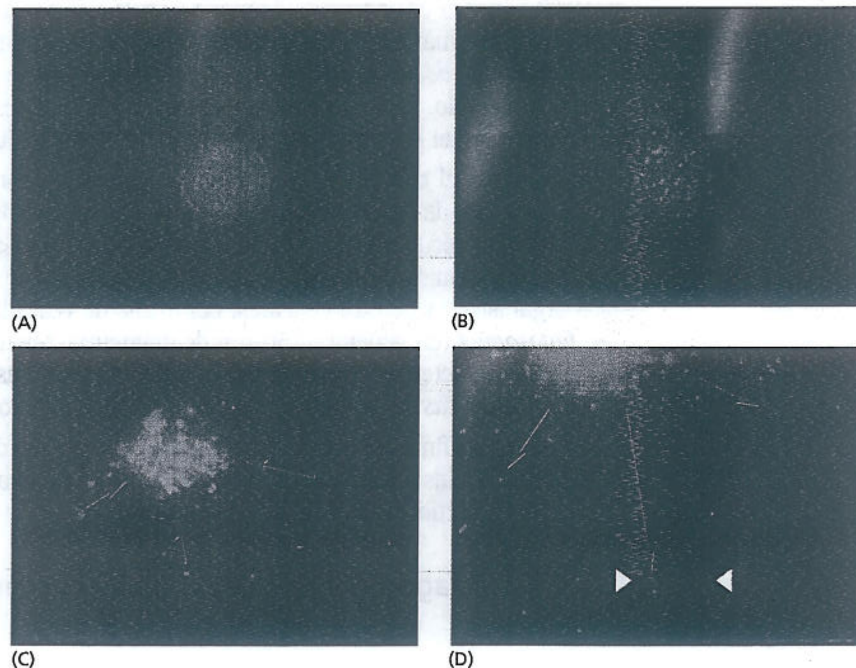


Figura 15-31. La fusión con la GPF permite seguir a las proteínas a lo largo de la célula. En este experimento la GPF se fusiona con la proteína de una cubierta viral y se expresa en las células cultivadas. En una célula infectada la proteína viral se moverá a través de la vía secretora desde el RE hacia la superficie celular, donde se ensamblaría la partícula viral. La proteína de la cubierta viral empleada en este experimento contiene una mutación que permite exportarla desde el RE sólo a bajas temperaturas. (A) A temperaturas altas la proteína de fusión marca el RE. (B) A medida que la temperatura desciende, la proteína de fusión GPF se acumula rápidamente en los sitios de salida del RE. (C) La proteína de fusión se mueve al complejo de Golgi. (D) Por último, la proteína de fusión se envía hacia la membrana plasmática, mostrada aquí en una imagen más de cerca. El halo que se observa entre las dos cabezas de flecha marca la mancha donde se fusionó una única vesícula, que expele la proteína de la cubierta viral hacia la membrana plasmática. (A-D, cortesía de Jennifer Lippincott-Schwartz).

Las proteínas destinadas a la secreción regulada se distribuyen y se empaquetan en la red *trans* de Golgi. Las proteínas que viajan por esta vía tienen propiedades especiales de superficie que las hacen agregarse entre sí en condiciones iónicas (pH ácido y Ca^{2+} alto) que prevalecen en la red *trans* de Golgi. Las proteínas agregadas son empaquetadas en las vesículas secretoras que se desprenden de la red y esperan una señal que las instruye para fusionarse con la membrana plasmática. Las proteínas segregadas por la vía constitutiva no se agregan y, por lo tanto, las vesículas de transporte las llevan en forma automática hacia la membrana plasmática. La agregación selectiva tiene otra función: permite que las proteínas secretoras sean empaquetadas en vesículas a concentraciones mucho mayores que las de las proteínas no agregadas en la luz del complejo de Golgi. Este aumento de la concentración puede llegar hasta las 200 veces, lo que permite que las células secretoras liberen grandes cantidades de proteína inmediatamente después de ser estimuladas a hacerlo (Fig. 15-28).

PREGUNTA 15-7

¿Qué esperaría que sucediera en las células que secretan grandes cantidades de proteínas a través de la vía secretora regulada si se pudieran cambiar las condiciones iónicas en la luz del RE hasta parecerse a las de la red *trans* del complejo de Golgi?

Cuando una vesícula secretora o una de transporte se fusiona con la membrana plasmática y descarga su contenido por exocitosis, su membrana se vuelve parte de la membrana plasmática. Si bien este hecho debería incrementar en gran medida la superficie de la membrana plasmática, lo hace sólo en forma transitoria debido a que se eliminan componentes de otras regiones de su superficie por endocitosis casi tan rápido como se agregan por exocitosis. De esta manera, las proteínas y los lípidos de las membranas vesiculares regresan a la red de Golgi, donde se pueden utilizar otra vez.

VÍAS ENDOCÍTICAS

Las células eucariontes captan en forma continua líquidos, moléculas grandes y pequeñas, por medio del proceso de endocitosis. Las células especializadas son capaces también de internalizar partículas grandes e incluso otras células. El material a ingerir es encerrado de modo progresivo por una pequeña porción de la membrana plasmática, que primero se invagina y luego se desprende para formar una *vesícula endocítica*. Por último, el material ingerido se envía a los lisosomas, donde es digerido. Los metabolitos generados por la digestión se transfieren directamente fuera del lisosoma hacia el citosol, donde la célula puede utilizarlos.

Sobre la base del tamaño de las vesículas endocíticas formadas se distinguen dos tipos principales de **endocitosis**. La *pinocitosis* ("bebida celular") implica la ingestión de líquido y moléculas por medio de vesículas pequeñas (<150 nm de diámetro). La *fagocitosis* ("comida celular") consiste en la ingestión de partículas grandes, como microorganismos y detritos celulares, por medio de vesículas de gran tamaño llamadas *fagosomas* (en general >250 nm de diámetro). Mientras que todas las células eucariontes ingieren continuamente líquidos y moléculas por pinocitosis, son las *células fagocíticas* especializadas las que ingieren sobre todo las partículas grandes.

En esta sección final del capítulo se detalla el desarrollo de la vía endocítica desde la membrana plasmática hasta los lisosomas. Comenzaremos por considerar la captación de partículas grandes por fagocitosis.

Las células fagocíticas especializadas ingieren partículas grandes

La forma más espectacular de endocitosis, la **fagocitosis**, se observó por primera vez hace más de cien años. En los protozoos, la fagocitosis es una forma de alimentación: los microorganismos ingieren partículas grandes, como bacterias, capturándolas en los fagosomas (Película 15.9). A continuación, estos fagosomas se fusionan con los lisosomas, donde se digieren las partículas de alimento. Escasas células en los organismos multicelulares son capaces de ingerir partículas grandes de manera eficiente. En el intestino animal, por ejemplo, las enzimas extracelulares deben degradar las partículas grandes de alimento y convertirlas en moléculas individuales antes de que las células del revestimiento intestinal puedan absorberlas.

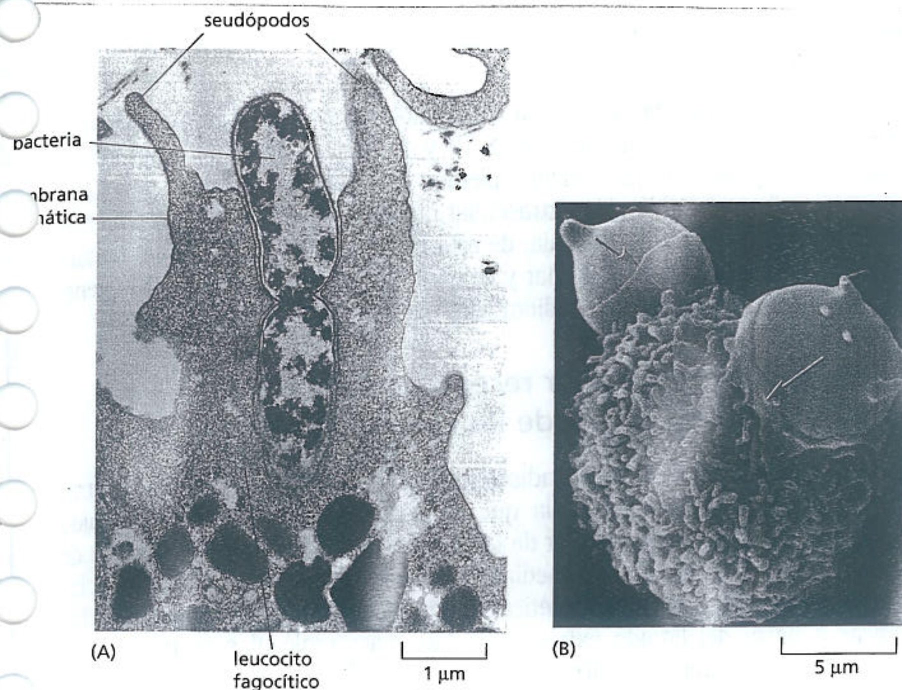


Figura 15-32. Células fagocíticas que ingieren otras células. (A) Microfotografía electrónica de un leucocito fagocítico (neutrófilo) en el momento en que ingiere una bacteria, que se encuentra en proceso de división. (B) Microfotografía electrónica de barrido que muestra un macrófago que fagocita dos eritrocitos. Los eritrocitos cambian de forma a medida que son captados por el macrófago. Las flechas *rojas* señalan los bordes de las láminas delgadas de la membrana, denominados seudópodos, que extienden las células fagocíticas como collares al envolver a su presa. (A. Cortesía de Dorothy F. Bainton. B. Cortesía de Jean Paul Revel).

No obstante, la fagocitosis es importante en la mayoría de los animales para dis- ...s propósitos de la nutrición. Las **células fagocíticas** –incluidos los *macrófagos*, que se encuentran distribuidos ampliamente en los tejidos, y algunos otros leucocitos– nos defienden de la infección al ingerir los microorganismos invaso- ... Para que un macrófago u otro leucocito sea capaz de capturar la partícula debe unirse primero con la superficie de la célula fagocítica y activar uno de una variedad de receptores de superficie. Algunos de estos receptores reconocen a los anti- ...pos, las proteínas que nos protegen contra la infección al unirse a la superficie del microorganismo. La unión de la bacteria cubierta de anticuerpos con estos receptores induce a la célula fagocítica a extender proyecciones de la membrana ...mática similares a láminas, llamadas *seudópodos*, que internalizan la bacteria (Fig. 15-32A) y se fusionan en sus extremos formando un *fagosoma*. A continuación, este compartimiento se fusiona con el lisosoma que digiere al microbio. ...nas bacterias patógenas han desarrollado trucos que eluden al sistema: por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*, agente causal de la tuberculosis, puede inhibir la fusión de la membrana que une el fagosoma con un lisosoma. En lugar ...estruirse, el microorganismo fagocitado sobrevive y se multiplica en el macrófago. Todavía se desconoce el modo en el que la bacteria logra esto.

L... células fagocíticas también desempeñan una función fundamental al depurar las ...las dañadas y muertas y los detritos celulares. Los macrófagos, por ejemplo, ingieren por día más de 10^{11} de nuestros eritrocitos desgastados (Fig. 15-32B).

Los líquidos y las macromoléculas son captados por pinocitosis

Las células eucariontes ingieren de manera continua partes de su membrana plasmática en la forma de vesículas pinocíticas pequeñas que más tarde se devuelven ... superficie celular. La velocidad a la que se internaliza la membrana plasmática por **pinocitosis** varía según el tipo celular pero, por lo general, es sorprendentemente grande. Un macrófago, por ejemplo, ingiere el 25% de su volumen en ...do por hora. Esto significa que moviliza el 3% de su membrana plasmática por minuto o el 100% en media hora. Los fibroblastos endocitan a una velocidad algo menor, mientras que algunas amebas fagocíticas lo hacen aun con mayor ...dez. Debido a que la superficie total y el volumen de la célula permanecen sin modificarse durante este proceso resulta claro que se añade tanta membrana a la

superficie celular por fusión vesicular (exocitosis) como la que se elimina por endocitosis.

Como se explicó, la pinocitosis se lleva a cabo sobre todo en las fosas y las vesículas recubiertas con clatrina (Figuras 15-19 y 15-20). Después de desprenderse de la membrana plasmática las vesículas pierden con rapidez su cubierta y se fusionan con un *endosoma*. El líquido extracelular queda atrapado en la fosa a medida que se invagina y forma una vesícula; de esta manera se internalizan las sustancias disueltas en el líquido extracelular y se envían a los endosomas. Por lo general, esta captación de líquido se equilibra con la pérdida durante la exocitosis.

La endocitosis mediada por receptor proporciona una vía específica hacia el interior de las células animales

Como se describió, la pinocitosis es indiscriminada. Las vesículas endocíticas atrapan simplemente cualquier molécula que se encuentre presente en el líquido extracelular y la conducen al interior de la célula. Sin embargo, en la mayoría de las células animales la pinocitosis mediada por las vesículas recubiertas con clatrina proporciona también una vía eficaz para la captación de macromoléculas específicas a partir del líquido extracelular. Las macromoléculas se unen a los receptores complementarios localizados sobre la superficie celular e ingresan en la célula como complejos macromolécula-receptor dentro de las vesículas recubiertas por clatrina. Este proceso, denominado **endocitosis mediada por receptor**, constituye un mecanismo selectivo de concentración que aumenta más de 1.000 veces la eficiencia para internalizar determinadas macromoléculas en comparación con la pinocitosis habitual, de modo que se pueden captar componentes menores del líquido extracelular en grandes cantidades sin tomar volúmenes correspondientemente grandes de líquido. Un ejemplo importante de endocitosis mediada por receptor es la capacidad de las células animales para captar el colesterol que requieren para elaborar membrana nueva.

El colesterol es extremadamente insoluble y se transporta en la sangre unido a proteínas en la forma de partículas conocidas como *lipoproteínas de baja densidad* o *LDL*. La LDL se une a los receptores localizados en las superficies celulares y los complejos receptor-LDL se ingieren por endocitosis mediada por receptor y se envían a los endosomas. El interior de los endosomas es más ácido que el citosol circundante o el líquido extracelular, de modo que, en este ambiente más ácido, la LDL se disocia del receptor: los receptores regresan a la membrana plasmática en vesículas de transporte donde son reutilizados, mientras que la LDL se transfiere a los lisosomas. En los lisosomas, las enzimas hidrolíticas degradan la LDL, se libera el colesterol que se dirige hacia el citosol, donde queda disponible para la síntesis de nueva membrana. Los receptores de LDL ubicados sobre la superficie celular son continuamente internalizados y se reciclan, estén o no ocupados por LDL (Fig. 15-33).

Esta vía de captación del colesterol está interrumpida en los individuos que heredan un gen defectuoso que codifica la proteína del receptor de LDL. En algunos casos faltan los receptores; en otros están presentes pero no funcionan. En cualquier caso, a causa de la deficiencia celular en la captación de LDL, el colesterol se acumula en la sangre y predispone a las personas a desarrollar aterosclerosis. A menos que reciban tratamiento farmacológico (estatinas) para reducir sus concentraciones de colesterol en sangre, es probable que fallezcan a edades tempranas a causa de ataques cardíacos provocados por la oclusión de las arterias que irrigan el corazón.

La endocitosis mediada por receptor se utiliza también para captar muchos otros metabolitos esenciales, como la vitamina B_{12} y el hierro, que las células no pueden captar por medio del proceso de transporte de membrana comentado en el capítulo 12. Por ejemplo, se requiere tanto la vitamina B_{12} como el hierro para la síntesis de hemoglobina, que es la proteína más importante de los eritrocitos; estos metabolitos ingresan en los eritrocitos inmaduros y forman un complejo con

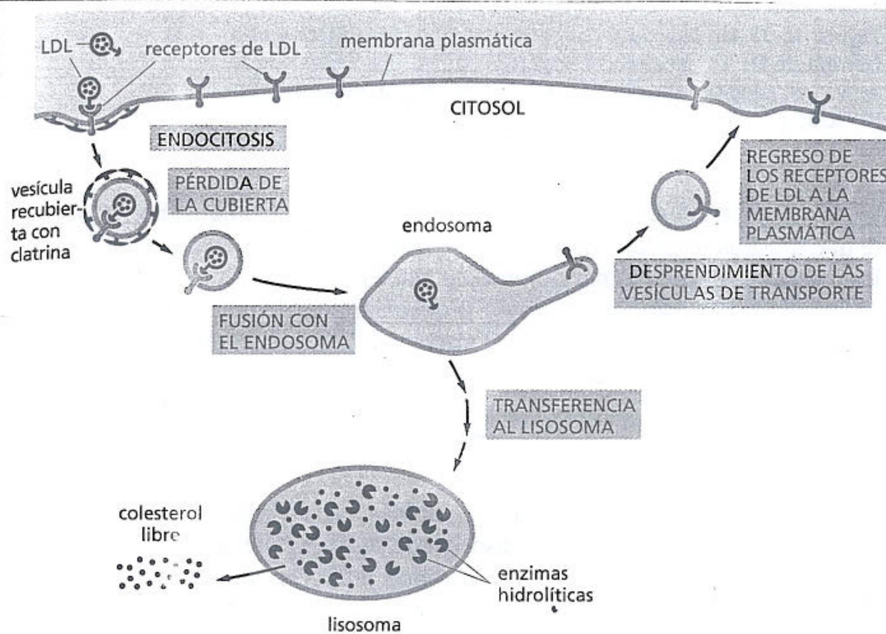


Figura 15-33. La LDL ingresa en la célula por medio de la endocitosis mediada por receptores. La LDL se une a los receptores que se encuentran sobre la superficie celular e ingresan en vesículas recubiertas con clatrina. Las vesículas pierden sus cubiertas y luego se fusionan con los endosomas. En el ambiente ácido del endosoma, la LDL se disocia de sus receptores. Mientras que la LDL termina en los lisosomas donde se degrada liberando colesterol, los receptores de la LDL vuelven a la membrana plasmática con las vesículas de transporte y pueden ser utilizados de nuevo (Película 15.10). Para mayor simplicidad sólo se muestra un receptor de LDL al ingresar en la célula y al volver a la membrana plasmática. Ocupado o no, un receptor de LDL suele realizar un viaje solo de ida y vuelta en la célula cada 10 minutos, para alcanzar un total de varios cientos durante su vida de 20 horas.

la proteína. A través de esta vía también se ingieren muchos receptores de la superficie celular que se unen con moléculas de señalización extracelular: algunos se reciclan hacia la membrana plasmática para su reutilización, en tanto que otros se degradan en los lisosomas. Lamentablemente, la endocitosis mediada por receptor puede ser aprovechada también por los virus: el de la influenza y el HIV, que causa el sida, logran ingresar en las células por este medio.

Las macromoléculas endocitadas se distribuyen en los endosomas

Dado que el material captado por pinocitosis se transfiere con rapidez a los **endosomas** es posible visualizar el compartimiento endosómico al incubar células viables en un líquido que contenga un marcador electrodenso, visible al microscopio electrónico. Al examinarlo de este modo, el compartimiento endosómico se revela como un conjunto complejo de tubos membranosos y vesículas grandes conectados. En estos experimentos se pueden distinguir dos tipos de endosomas: las moléculas del marcador aparecen primero en los *endosomas tempranos*, justo por debajo de la membrana plasmática y 5 a 15 minutos más tarde, en los *endosomas tardíos*, más cerca del núcleo (véase Fig. 15-18). Los endosomas tempranos maduran de manera gradual en endosomas tardíos a medida que se fusionan entre sí o con un endosoma tardío preexistente (**Película 15-11**). El interior del compartimiento endosómico se mantiene ácido (pH 5-6) por medio de una bomba de H^+ (protones) impulsada por ATP, presente en la membrana del endosoma, que bombea H^+ hacia su luz desde el citosol.

El compartimiento endosómico actúa como la principal estación de distribución en la vía endocítica hacia el interior, del mismo modo que la red *trans* de Golgi cumple esta función en la vía secretora hacia el exterior. El ambiente ácido del endo-

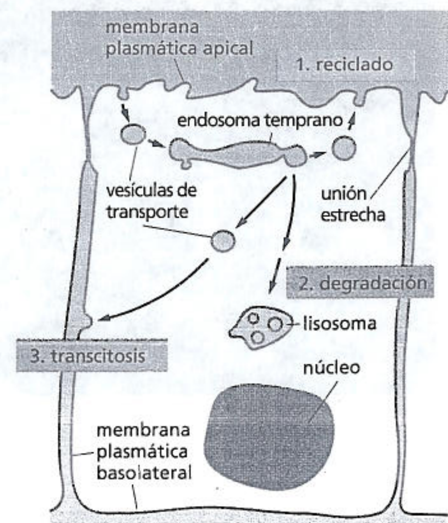


Figura 15-34. El destino de las proteínas receptoras implicadas en la endocitosis depende del tipo de receptor. Se muestran tres vías del compartimiento endosómico en una célula epitelial. Los receptores que no fueron recuperados específicamente de los endosomas tempranos siguen el camino desde el compartimiento endosómico hacia los lisosomas donde se degradan. Los que se recuperan, regresan al mismo dominio de la membrana plasmática del que proceden (*reciclado*) o a un dominio diferente (*transcitosis*). Si la molécula que se endocitó junto con su receptor permanece unida a él en el ambiente ácido del endosoma seguirá la misma vía que el receptor; de otra manera se enviará a los lisosomas para su degradación.

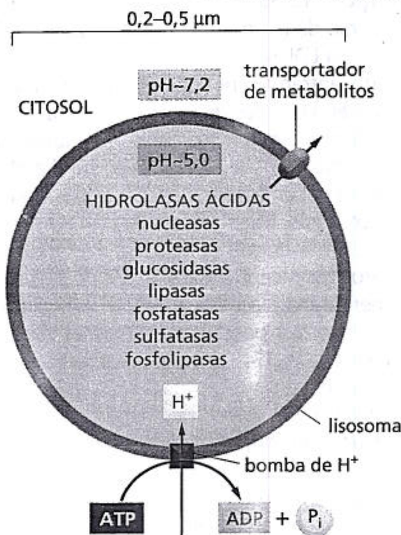


Figura 15-35. Un lisosoma contiene enzimas hidrolíticas y una bomba de H+. Las hidrolasas ácidas son enzimas hidrolíticas que se activan en condiciones ácidas. La luz del lisosoma se mantiene a un pH ácido por una ATPasa de H+ en la membrana que bombea H+ hacia la luz.

soma desempeña una función crucial en el proceso de distribución porque permite que muchos receptores liberen su carga unida. Tras el ingreso en el endosoma los receptores pueden tomar caminos diferentes, que varían de acuerdo con el tipo de receptor: 1) la mayoría regresa al mismo dominio de la membrana plasmática del que procede, como en el caso del receptor de LDL comentado con anterioridad, 2) algunos viajan hacia los lisosomas, donde se degradan y 3) algunos se dirigen hacia un dominio diferente de la membrana plasmática, donde transfieren sus moléculas de carga de un espacio extracelular a otro, un proceso llamado *transcitosis* (Fig. 15-34).

Las proteínas de carga que permanecen unidas a sus receptores comparten el destino de estos últimos. Las que se disocian de sus receptores en el endosoma están condenadas a la destrucción en los lisosomas junto con la mayor parte del contenido de la luz de los endosomas. Los endosomas tardíos contienen algunas enzimas lisosómicas, de modo que la digestión de las proteínas de carga y de otras macromoléculas comienza en el endosoma y continúa a medida que el endosoma madura en forma gradual en un lisosoma.

Los lisosomas son los sitios principales de la digestión intracelular

Muchas partículas y moléculas extracelulares ingeridas por las células terminan en los **lisosomas**, sacos membranosos con enzimas hidrolíticas que llevan a cabo la digestión intracelular controlada tanto de los materiales extracelulares como de los orgánulos desgastados. Contienen cerca de 40 tipos de enzimas hidrolíticas, entre ellas las que degradan las proteínas, los ácidos nucleicos, los oligosacáridos y los fosfolípidos. Todas estas enzimas tienen su punto óptimo de acción en las condiciones ácidas (pH ~5) que se encuentran dentro de los lisosomas. La membrana del lisosoma mantiene estas enzimas destructivas fuera del citosol (cuyo pH es de alrededor de 7,2), pero la dependencia ácida de las enzimas protege al contenido del citosol de cualquier daño aun si se produjera alguna fuga. Como todos los demás orgánulos intracelulares, el lisosoma no sólo contiene una única colección de enzimas sino que también posee una única membrana. Esta membrana contiene proteínas de transporte que permiten que los productos finales de la digestión de las macromoléculas como los aminoácidos, los azúcares y los nucleótidos, sean transferidos hacia el citosol, desde donde la célula pueda excretarlos o utilizarlos. La membrana contiene también una bomba de H+ impulsada por ATP que, como la ATPasa en la membrana endosómica, bombea H+ (protones) hacia el lisosoma y, de esta manera, mantiene su contenido en un pH ácido (Fig. 15-35). La mayoría de las proteínas de la membrana del lisosoma están altamente glucosiladas de manera inusual; los azúcares, que cubren gran parte de la superficie de la proteína que enfrenta a la luz, las protegen de la digestión por las proteasas lisosómicas.

Las enzimas digestivas especializadas y las proteínas de membrana del lisosoma se sintetizan en el RE y se transportan a través del complejo de Golgi hacia la red *trans*. En el RE y en la red *cis* del complejo de Golgi las enzimas están marcadas con un azúcar fosforilado específico (manosa 6-fosfato), de modo que cuando llegan a la red *trans* pueden ser reconocidas por un receptor adecuado, el receptor de la manosa 6-fosfato. Esta marcación permite distribuir y empaquetar a las enzimas en vesículas de transporte, que brotan y envían sus contenidos a los lisosomas a través de los endosomas tardíos (Fig. 15-18).

De acuerdo con su origen, los materiales siguen vías diferentes hacia los lisosomas. Hemos observado que las partículas extracelulares son captadas dentro de

PREGUNTA 15-8

El hierro (Fe) es un oligoelemento esencial que requieren todas las células. Se necesita, por ejemplo, para la síntesis de los grupos hemo que son parte de los sitios activos de muchas enzimas implicadas en las reacciones de transferencia de electrones; también se lo requiere en la hemoglobina, la principal proteína de los eritrocitos. Las células captan el hierro por endocitosis mediada por receptor. El sistema de captación de hierro tiene dos componentes, una proteína soluble llamada transferrina, que circula en el torrente sanguíneo y un receptor de transferrina –una proteína transmembrana que, como el receptor de la LDL en la figura 15-33, es continuamente endocitado y se recicla a la membrana plasmática–. Los iones de hierro se unen a la transferrina a pH neutro pero no a pH ácido. La transferrina se une a su receptor a pH neutro sólo cuando tienen el ión Fe unido, pero se une al receptor a pH ácido aun en ausencia de hierro. A partir de estas propiedades describa cómo se capta el hierro y explique las ventajas de este complicado esquema.

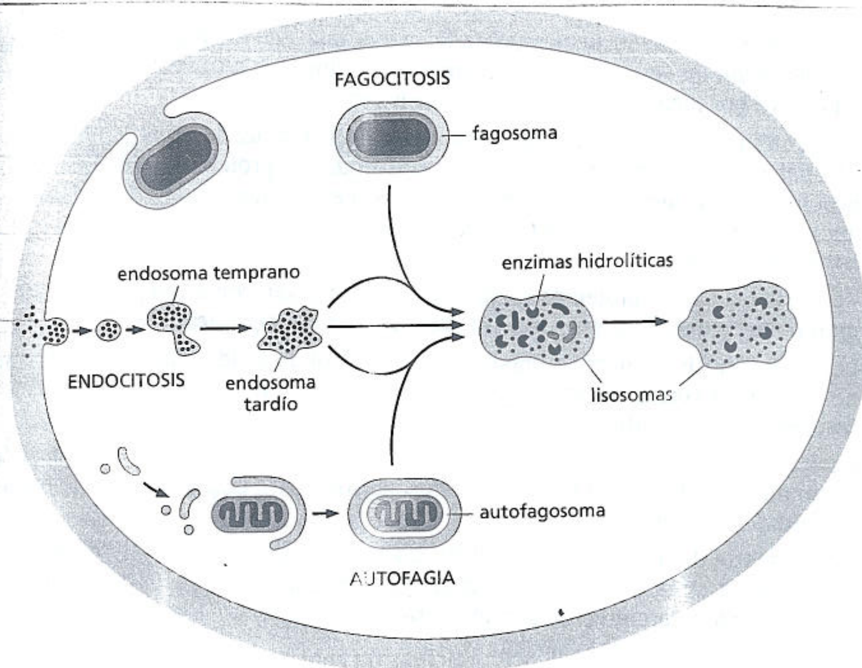


Figura 15-36. Los materiales destinados a la degradación siguen vías diferentes hacia los lisosomas. Cada vía conduce a la digestión intracelular de los materiales derivados de una fuente diferente. Los compartimientos resultantes de las tres vías se pueden distinguir a veces por su morfología –de aquí los términos "autofagolisosoma" "fagolisosoma" y otros–. Estos lisosomas difieren, sin embargo, sólo por los diferentes materiales que digieren.

los fagosomas, que se fusionan con los lisosomas y que el líquido y las macromoléculas extracelulares son captados en vesículas endocíticas más pequeñas, que envían su contenido a los lisosomas a través de los endosomas. Pero las células cuentan con una vía adicional para proveer materiales a los lisosomas; esta vía, conocida como *autofagia,* degrada las partes obsoletas de la célula en sí. En las microfotografías electrónicas de las células hepáticas, por ejemplo, se observan lisosomas mientras digieren mitocondrias y otros orgánulos. Al parecer, el proceso comienza con una membrana doble que circunda al orgánulo, al crear un *autofagosoma*, que luego se fusiona con los lisosomas (Fig. 15-36). No se conoce cuál es la marca que indica que un orgánulo deba destruirse de este modo.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las células eucariontes contienen muchos orgánulos delimitados por membranas, entre ellos un núcleo, un retículo endoplasmático (RE), un complejo de Golgi, lisosomas, endosomas, mitocondrias, cloroplastos (en las células vegetales) y peroxisomas.
- La mayoría de las proteínas de los orgánulos se elaboran en el citosol y se transportan hacia el interior del orgánulo donde cumplen su función. Las señales de distribución, determinadas por la secuencia de aminoácidos, guían a las proteínas hacia el orgánulo correspondiente; las proteínas que actúan en el citosol no tienen señales y permanecen donde se fabrican.
- Las proteínas del núcleo contienen señales de localización nuclear que ayudan a dirigir su transporte activo desde el citosol hasta el núcleo a través de los poros de su membrana doble por los que penetra. Las proteínas pueden entrar en el núcleo sin desplegarse.
- La mayoría de las proteínas de las mitocondrias y de los cloroplastos se elaboran en el citosol y después son transportadas en forma activa hacia el interior de los orgánulos por medio de proteínas translocadoras presentes en sus membranas. Para atravesar la membrana de las mitocondrias y de los cloroplastos se deben desplegar.
- El RE es la fábrica de membranas de la célula; produce la mayor parte de sus lípidos y muchas de sus proteínas. Estas últimas se elaboran en los ribosomas unidos a la superficie del RE rugoso.
- Los ribosomas en el citosol se dirigen hacia el RE si la proteína que producen posee una secuencia señal de RE, reconocida por una partícula de reconocimiento de señal (SRP) presente en el citosol; la unión del complejo SRP-ribosoma con

un receptor que se encuentra sobre la membrana del RE inicia el proceso de translocación que enhebra el polipéptido en crecimiento a través de la membrana del RE por medio de un canal de translocación.

- Las proteínas solubles destinadas a la secreción o a la luz de un orgánulo ingresan por completo en la luz del RE, en tanto que las proteínas transmembrana destinadas a la membrana del RE o a otras membranas celulares permanecen ancladas en la bicapa lipídica por una o más hélices α que abarcan todo el espesor de la membrana.
- En la luz del RE las proteínas se pliegan, se ensamblan con otras proteínas, forman puentes disulfuro y se acoplan con cadenas de oligosacáridos.
- La salida del RE es un paso importante de control de calidad; las proteínas que no se pliegan correctamente o no se ensamblan con sus compañeras normales son retenidas en el RE por proteínas chaperonas y, por último, degradadas.
- La acumulación de proteínas mal plegadas dispara una respuesta que expande el tamaño del RE, lo cual incrementa su capacidad para plegar nuevas proteínas en forma apropiada.
- El transporte de proteínas desde el RE hacia el complejo de Golgi y desde este último hacia otros destinos es mediado por vesículas de transporte que continuamente se desprenden de una membrana y se fusionan con otra, un proceso denominado transporte vesicular.
- Las vesículas de transporte tienen proteínas de cubierta características sobre su cara citosólica; el ensamblado de la cubierta impulsa el proceso de brotación y las proteínas que las recubren ayudan a incorporar receptores unidos a sus moléculas de carga en las vesículas en formación.
- Las vesículas recubiertas pierden la cubierta proteica muy pronto después de su desprendimiento, lo que les permite acoplarse y fusionarse con una membrana diana determinada; se considera que el acoplamiento y la fusión son mediados por proteínas que se encuentran sobre la vesícula y sobre las membranas diana, como las proteínas Rab y SNARE.
- El complejo de Golgi recibe proteínas recién formadas desde el RE; éste modifica los oligosacáridos, distribuye las proteínas y las envía desde la red *trans* de Golgi hasta la membrana plasmática, los lisosomas o las vesículas secretoras.
- En todas las células eucariontes, las vesículas de transporte brotan continuamente desde la red trans de Golgi y se fusionan con la membrana plasmática, un proceso denominado exocitosis constitutiva; el proceso provee de lípidos y proteínas a la membrana plasmática y también libera moléculas desde la célula en el proceso de secreción.
- Las células secretoras especializadas tienen también una vía de exocitosis regulada, en la que las moléculas almacenadas en las vesículas secretoras se liberan desde la célula por exocitosis en el momento que la célula recibe la señal de segregar.
- Las células ingieren líquidos, moléculas y, a veces, hasta partículas por endocitosis, en la que sectores de la membrana plasmática se invaginan y se desprenden formando vesículas endocíticas.
- Gran parte del material endocitado se envía a los endosomas y luego a los lisosomas, donde las enzimas hidrolíticas lo degradan; sin embargo, la mayoría de los componentes de la membrana de la vesícula endocítica se recicla en vesículas de transporte que vuelven hacia la membrana plasmática para su reutilización.

PALABRAS CLAVE

complejo de Golgi
célula fagocítica
citosol
clatrina
endocitosis
endocitosis mediada por receptor
endosoma
envoltura nuclear
exocitosis
fagocitosis
lisosoma
orgánulo delimitado por membrana
peroxisoma
pinocitosis
poro nuclear
proteína Rab
respuesta a proteínas desplegadas (UPR)
retículo endoplasmático (RE)
retículo endoplasmático rugoso
secreción
secuencia señal
SNARE
transporte vesicular
vesícula de transporte
vesícula recubierta
vesícula secretora

PREGUNTAS

PREGUNTA 15-9

¿Cuál de las siguientes afirmaciones es correcta? Explique sus respuestas.

A. Los ribosomas son estructuras citoplasmáticas que, durante la síntesis de proteínas se ligan a una molécula de mRNA formando polirribosomas.

B. La secuencia de aminoácidos Leu-His-Arg-Leu-Asp-Ala-Gln-Ser-Lys-Leu-Ser-Ser es una secuencia señal que dirige las proteínas al RE.

C. Todas las vesículas de transporte en la célula deben tener una proteína v-SNARE en su membrana.

D. Las vesículas de transporte entregan proteínas y lípidos a la superficie celular.

E. Si se interrumpiera la entrega de las futuras proteínas lisosómicas desde la red *trans* de Golgi a los endosomas tardíos, las proteínas lisosómicas se segregarían por las vías secretoras constitutivas que se muestran en la figura 15-27.

F. Los lisosomas digieren sólo sustancias que las células captaron por endocitosis.

G. Las cadenas de azúcares *N*-ligadas se encuentran sobre las glucoproteínas que enfrentan la superficie celular, como también sobre glucoproteínas orientadas hacia la cara luminal del RE, la red *trans* de Golgi y las mitocondrias.

PREGUNTA 15-10

Algunas proteínas son transportadas varias veces entre el núcleo y el citosol. Ellas necesitan una señal de exportación nuclear para salir del núcleo. ¿Cómo supone que las proteínas alcanzan el núcleo?

PREGUNTA 15-11

Los virus de la influenza están rodeados por una membrana que contiene una proteína de fusión, que se activa a pH ácido. Una vez activada la proteína provoca la fusión de la membrana viral con la membrana celular. Un antiguo remedio casero contra el resfrío recomienda que uno debe pasar la noche en un establo de caballos. Si bien puede sonar excéntrico, existe una explicación racional para este consejo. El aire en los establos contiene amonio (NH_3) generado por las bacterias de la orina del caballo. Trace un diagrama mostrando las vías (en detalle) por las que el virus entra en las células y especule cómo el NH_3 puede proteger a las células de la infección viral. (Pista: el NH_3 puede neutralizar a las soluciones ácidas por medio de la reacción $NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$).

PREGUNTA 15-12

Considere las v-SNARE que dirigen las vesículas de transporte desde la red *trans* de Golgi hacia la membrana plasmática. Como todas las demás v-SNARE, son proteínas de membrana que se integran en la membrana del RE durante su biosíntesis y son transportadas por las vesículas de transporte hasta su destino. De esta manera, las vesículas de transporte que brotan desde el RE contienen por lo menos dos clases de v-SNARE –las que señalan las vesículas hacia las cisternas *cis* de Golgi y las que se encuentran en tránsito hacia la red *trans* para ser empaquetadas en diferentes vesículas de transporte destinadas a la membrana plasmática–. A) ¿Por qué podría esto ser un problema? B) Sugiera maneras posibles en que las células podrían resolverlo.

PREGUNTA 15-13

Un tipo particular de mutante de *Drosophila* se paraliza cuando se eleva la temperatura. La mutación afecta la estructura de la dinamina y causa su inactivación a temperaturas más elevadas. De hecho, se descubrió la función de la dinamina al analizar el defecto en estos mutantes de la mosca de la fruta. La parálisis completa a temperaturas elevadas sugiere que la transmisión sináptica entre el nervio y las células musculares (explicada en el capítulo 12) está interrumpida. Sugiera por qué podría requerir dinamina la transmisión de una señal en la sinapsis. Sobre la base de su hipótesis, ¿qué esperaría observar en las microfotografías electrónicas de las sinapsis de las moscas que fueran expuestas a temperaturas elevadas?

PREGUNTA 15-14

Si es necesario, corrija las siguientes afirmaciones para tornarlas verdaderas: "Debido a que las proteasas no eliminan los secuencias de localización nuclear de una proteína tras su importación al núcleo se pueden reutilizar para importar proteínas nucleares después de la mitosis, cuando éstas y las citosólicas se entremezclan. Esto se contradice con los secuencias señal para el RE, que son eliminadas por una peptidasa señal una vez que alcanzan la luz del RE. Por lo tanto, estas secuencias señal no pueden reutilizarse para importar proteínas al RE después de la mitosis, cuando las proteínas citosólicas y las del RE se entremezclan; estas proteínas deben entonces degradarse y volver a sintetizarse".

PREGUNTA 15-15

Considere una proteína que contenga una secuencia señal para el RE en su *N*-terminal y una secuencia de localización nuclear en el medio. ¿Cuál cree que será el destino de esta proteína? Explique su respuesta.

PREGUNTA 15-16

Haga una comparación y un contraste entre la importación de una proteína hacia el RE y hacia el núcleo. Enumere al menos dos diferencias principales en los mecanismos y especule por qué el mecanismo para el RE no funcionaría para la importación nuclear y a la inversa.

PREGUNTA 15-17

Durante la mitosis la envoltura nuclear se desintegra en pequeñas vesículas y las proteínas intranucleares se entremezclan por completo con las citosólicas. ¿Esto concuerda con el esquema evolutivo propuesto en la figura 15-3?

PREGUNTA 15-18

Las células hepáticas segregan normalmente hacia el torrente sanguíneo una proteína que inhibe ciertas enzimas proteolíticas (proteasas). Esta proteína inhibidora, antitripsina, está ausente de la sangre de pacientes que portan una mutación que ocasiona el cambio de un único aminoácido en la proteína. La deficiencia de antitripsina causa una variedad de problemas graves, en particular en el tejido pulmonar, debido a la actividad descontrolada de las proteasas. De manera sorprendente, cuando la antitripsina mutante se sintetiza en el laboratorio, es tan activa en inhibir las proteasas como la proteína normal. ¿Por qué entonces la mutación causa la enfermedad? Piense en más de una posibilidad y sugiera las maneras de distinguirlas.

PREGUNTA 15-19

El derecho a la fama de la doctora Outonalimb proviene de su descubrimiento de la olvidina (*forgettin*), una proteína elaborada de manera predominante en la glándula pineal de los adolescentes humanos. La proteína causa falta de respuesta selectiva a corto plazo y pérdida de la memoria cuando el sistema auditivo recibe mensajes como "¡Por favor, saca la basura!". Su hipótesis es que la olvidina tiene una secuencia señal hidrófoba para el RE en su C-terminal que es reconocida por una SRP y produce su translocación a través de la membrana del RE por medio del mecanismo presentado en la figura 15-14. La doctora Outonalimb predice que las células de la glándula pineal segregan la proteína hacia el torrente sanguíneo, donde ejerce sus efectos sistémicos devastadores. Usted es un miembro del comité que decide si la doctora debe recibir un subsidio para continuar el trabajo sobre su hipótesis. Considere que las revisiones para subsidios deberían ser atentas y constructivas.

PREGUNTA 15-20

Si se toma una etapa posterior del esquema evolutivo de la figura 15-3 sugiera cómo podría haber evolucionado el complejo de Golgi. Trace un diagrama simple para ilustrar sus ideas. Para que el complejo de Golgi sea funcional ¿qué más debería haber evolucionado?

PREGUNTA 15-21

Si las proteínas de membrana se integran a la membrana del RE por medio de los canales de translocación de proteínas del RE (que en sí mismos están compuestos por proteínas de membrana), ¿cómo se incorpora el primer canal de translocación de proteínas en la membrana del RE?

PREGUNTA 15-22

El esquema de la figura P15-22 es un dibujo de una microfotografía electrónica que se muestra en el tercer panel de la figura 15-19A. Nombre las estructuras señaladas con letras en el esquema.

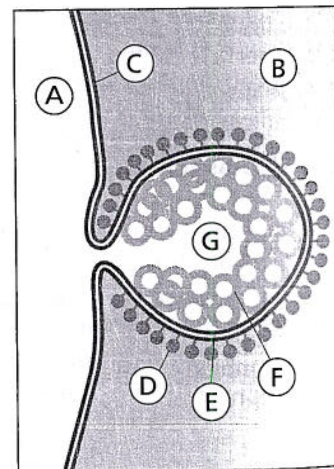


Figura P15-22.



CAPÍTULO **DIECISÉIS** 16

Comunicación celular

Las células individuales, al igual que los organismos pluricelulares, necesitan percibir su medio y responder a él. Una célula de vida libre –incluso una modesta bacteria– debe ser capaz de localizar nutrientes, diferenciar entre la luz y la oscuridad, y evitar tóxicos y predadores. Si una célula de este tipo tiene alguna forma de 'vida social' debe ser capaz de comunicarse con otras células. Por ejemplo, cuando una célula de levadura está lista para aparearse, secreta una pequeña proteína llamada factor de apareamiento. Las células de levadura del 'sexo' opuesto detectan este llamado químico y responden deteniendo el progreso del ciclo celular y dirigiéndose hacia la célula que emitió la señal (Fig. 16-1).

En un organismo pluricelular, las cosas son mucho más complicadas. Las células deben interpretar las numerosas señales que reciben de otras células para poder coordinar sus comportamientos. Durante el desarrollo animal, por ejemplo, las células del embrión intercambian señales que determinan qué papel especializado desempeñará cada una, qué posición ocupará en el animal y si sobrevivirá, se dividirá o morirá. En etapas ulteriores de la vida, gran variedad de señales coordinan el crecimiento del animal, y su fisiología y comportamiento cotidianos. También en las plantas, las células se comunican constantemente entre sí. Estas interacciones intercelulares permiten que una planta responda a las condiciones de luz, oscuridad y temperatura que guían los ciclos de crecimiento, floración y producción de frutos, y que coordine lo que sucede en sus raíces, tallos y hojas.

En este capítulo, se examinan algunos de los mecanismos más importantes que utilizan las células para comunicarse, y se analiza cómo envían e interpretan las señales que reciben. Si bien se pone el acento en los mecanismos de recepción e interpretación de señales de las células animales, también se hace una breve reseña sobre los conocimientos de las vías de señalización en las plantas. El análisis comienza con una revisión de los principios generales de señalización celular y después, se considera dos de los principales sistemas que permiten que las células animales reciban e interpreten señales.

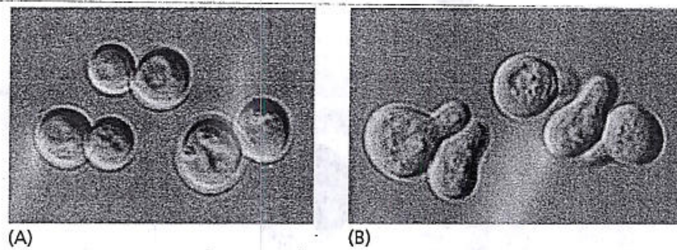


Figura 16-1. Las células de levaduras responden al factor de apareamiento. Las células de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en gemación normalmente son esféricas (A), pero cuando se exponen a un factor de apareamiento apropiado producido por células de levadura vecinas emiten una protrusión hacia la fuente del factor (B). Las células que adoptan esta forma en respuesta a la señal de apareamiento se denominan "shmoos", por el personaje clásico de dibujos animados de la década de 1940 creado por Al Capp. (Cortesía de Michael Snyder).

PRINCIPIOS GENERALES DE LA SEÑALIZACIÓN CELULAR

La información puede ingresar de diversas formas y, con frecuencia, la comunicación implica la conversión de las señales que transportan esa información de una forma a otra. Por ejemplo, cuando usted recibe una llamada de un amigo en su teléfono móvil, se convierten las señales de radio, que viajan a través del aire, en ondas sonoras, que usted oye. Este proceso de conversión se denomina **transducción de señales** (Fig. 16-2).

Las señales que se transmiten entre las células vivas son más simples que la clase de mensajes que suelen intercambiar los seres humanos. En una comunicación típica entre células, la *célula señalizadora* produce un tipo especial de *molécula señalizadora* que es detectada por la *célula diana*. Al igual que en la conversación humana, la mayoría de las células animales envían y reciben señales y, por lo tanto, pueden actuar como células señalizadoras y como células diana. Las células diana tienen *proteínas receptoras* que reconocen y responden en forma específica a la molécula señalizadora. La transducción de la señal comienza cuando la proteína receptora de una célula diana recibe una señal extracelular y la convierte en señales intracelulares que modifican el comportamiento celular. La mayor parte de este capítulo se ocupa de la recepción y la transducción de señales: los acontecimientos a los que se refieren los biólogos celulares cuando hablan de **señalización celular**. Sin embargo, en primer lugar, se consideran brevemente los distintos tipos de señales que se envían las células entre sí.

Las señales pueden actuar a distancias largas o cortas

Las células de los organismos pluricelulares cuentan con centenares de tipos de moléculas extracelulares en el envío de señales: proteínas, péptidos, aminoácidos, nucleótidos, esteroides, derivados de ácidos grasos o, incluso, gases disueltos, pero sólo tienen unos pocos estilos básicos de comunicación que transmiten el mensaje.

En los organismos pluricelulares, el estilo más 'conocido' de comunicación consiste en transmitir la señal a todo el cuerpo secretando moléculas señalizadoras en el torrente sanguíneo (en un animal) o en la savia (en una planta). Las moléculas señalizadoras utilizadas de esta manera se denominan **hormonas**, y en los animales, las células que producen las hormonas se denominan células *endocrinas*



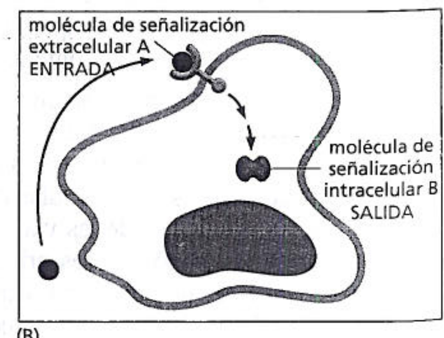


Figura 16-2. La transducción de señales es el proceso por el que un tipo de señal se convierte en otro. (A) Un teléfono móvil convierte una señal de radio en un sonido cuando recibe (y viceversa cuando transmite). (B) Una célula diana convierte una señal extracelular (molécula A) en una señal intracelular (molécula B).

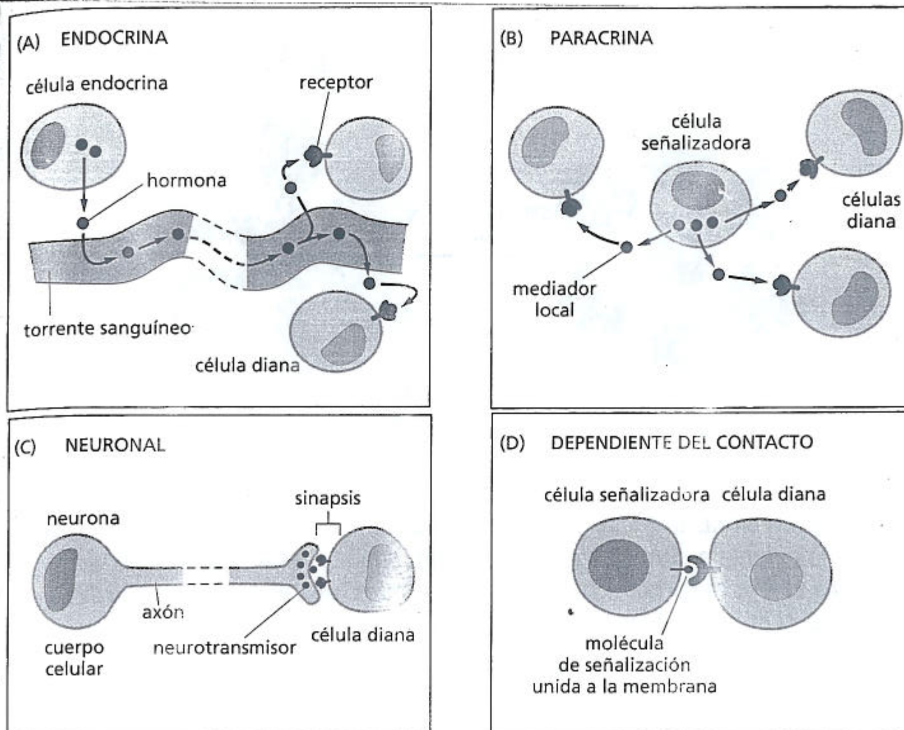


Figura 16-3. Las células animales pueden enviarse señales entre sí de diversas maneras. (A) Las glándulas endocrinas producen hormonas que se secretan hacia el torrente sanguíneo y se distribuyen por todo el cuerpo. (B) Las células liberan señales paracrinas hacia el fluido extracelular cercano, que actúan en forma local. (C) Las señales neuronales se transmiten a lo largo de los axones hasta células diana remotas. (D) En la señalización dependiente del contacto, una molécula señalizadora unida a la superficie celular se une una proteína receptora de una célula adyacente. En la señalización endocrina, paracrina y neuronal participan muchos de los mismos tipos de moléculas señalizadoras. Las principales diferencias radican en la velocidad y en la selectividad con que se envían estas señales a sus dianas.

(Fig. 16-3A). Por ejemplo, parte del páncreas es una glándula endocrina que produce la hormona insulina, que regula la captación de glucosa por las células de todo el cuerpo.

El proceso conocido como *señalización paracrina* es algo menos común. En este caso, en lugar de ingresar en el torrente sanguíneo, las moléculas señalizadoras difunden en forma local a través del fluido extracelular y permanecen cerca de la célula que las secreta. Así, actúan como **mediadores locales** sobre las células cercanas (Fig. 16-3B). Muchas de las moléculas señalizadoras que regulan la inflamación en el sitio de una infección o que controlan la proliferación celular en una herida en vías de cicatrización actúan de esta manera. En algunos casos, las células pueden responder a mediadores locales que producen ellas mismas, una forma de comunicación paracrina denominada *señalización autocrina*; a veces, las células cancerosas promueven su propia supervivencia o proliferación de esta manera.

Una tercera forma de comunicación celular es la *señalización neuronal*. Al igual que las células endocrinas, las células nerviosas (neuronas) pueden enviar mensajes a largas distancias. Sin embargo, en el caso de la señalización neuronal, el mensaje no se transmite de manera amplia, sino que se envía de manera rápida y específica a células diana individuales a través de líneas privadas. Como se describió en el capítulo 12, el axón de una neurona termina en uniones especializadas (*sinapsis*) en células diana que pueden estar alejadas del cuerpo celular (Fig. 16-3C). Por ejemplo, los axones que conectan la médula espinal con el dedo gordo del pie pueden tener más de 1 m de longitud. Al ser activada por señales del medio o de otras células nerviosas, la neurona envía impulsos eléctricos a lo largo de su axón a velocidades de hasta 100 m/seg. Al llegar a la terminación del axón estas señales eléctricas se convierten en señales químicas: cada impulso eléctrico estimula a la terminación nerviosa a que libere un pulso de una *molécula de señalización extracelular*, llamada **neurotransmisor**. Después, el neurotransmisor atraviesa la estrecha hendidura (< 100 mm) entre la membrana de la terminación del axón y la membrana de la célula diana y alcanza los receptores en menos de 1 mseg.

Una cuarta forma de comunicación intercelular mediada por señales –la más íntima y la más cercana de todas– no requiere la liberación de una molécula secretada. En cambio, las células entran en contacto físico directo a través de moléculas señalizadoras alojadas en la membrana plasmática de la célula señalizadora y las

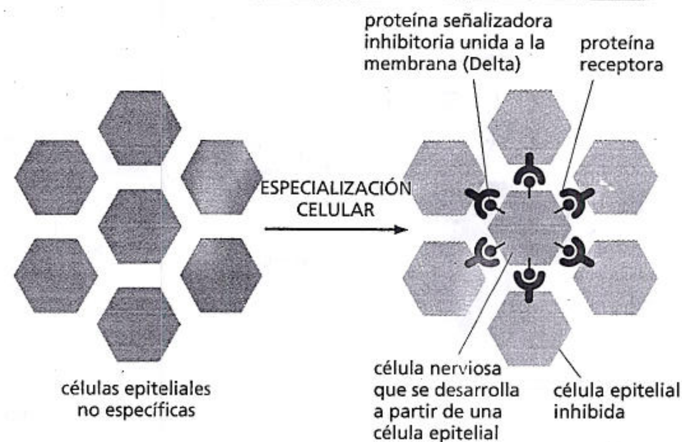


Figura 16-4. La señalización dependiente del contacto controla la producción de células nerviosas en la mosca de la fruta *Drosophila*. El sistema nervioso de la mosca se origina en el embrión a partir de una lámina de células epiteliales. Algunas células aisladas de esta lámina comienzan a especializarse como neuronas, mientras que sus vecinas siguen sin convertirse en neuronas y mantienen la estructura epitelial de la hoja. Las señales que controlan este proceso se transmiten a través de contactos intercelulares directos: cada futura neurona envía una señal inhibitoria a las células vecinas que evitan que se especialicen también como neuronas. Tanto la molécula señalizadora (en este caso delta) como la molécula receptora (llamada Notch) son proteínas transmembrana. Este mismo mecanismo, mediado en esencia por las mismas moléculas, controla el detallado patrón de los tipos celulares especializados en otros tejidos, tanto en vertebrados como en invertebrados. Las moscas mutantes en las que falla este mecanismo producen un exceso de algunos tipos celulares (por ejemplo, neuronas) a expensas de otros.

moléculas receptoras incluidas en la membrana plasmática de la célula diana (Fig. 16-3D). Por ejemplo, durante el desarrollo embrionario, esta *señalización dependiente del contacto* permite que células adyacentes, que al comienzo son similares, se especialicen en diferentes tipos celulares (Fig. 16-4).

Para relacionar estos distintos estilos de señalización, imagine que se intenta publicitar una conferencia posiblemente interesante, o un concierto o un partido de fútbol. La señal endocrina sería similar a la transmisión de la información por una estación de radio. Un volante o afiche colocado en determinados tableros de anuncios equivaldría a una señal paracrina localizada. Las señales neuronales –a larga distancia pero personales– serían similares a una llamada telefónica o a un correo electrónico, y la señalización dependiente del contacto sería como una buena conversación cara a cara, al estilo antiguo. En la señalización autocrina, usted podría escribirse una nota como recordatorio.

El cuadro 16-1 enumera algunos ejemplos de hormonas, de mediadores locales, de neurotransmisores y de moléculas señalizadoras dependientes de contacto. Más adelante en este capítulo, se analiza en detalle la acción de varios de ellos.

Cada célula responde a un conjunto limitado de señales, lo que depende de su historia y su estado actual

Una célula típica de un organismo pluricelular está expuesta a centenares de moléculas señalizadoras diferentes de su medio. Estas moléculas pueden estar libres en el fluido extracelular, incluidas en la matriz extracelular en la que se encuentra la mayoría de las células o unidas a la superficie de células vecinas. Cada célula debe responder en forma selectiva a esta mezcla de señales, ignorando a algunas de ellas y reaccionando frente a otras, de acuerdo con su función especializada.

La respuesta de una célula a una molécula señalizadora depende, en primer lugar, de que tenga una **proteína receptora** o **receptor**, para esa señal. Por lo general, cada receptor es activado por sólo un tipo de señal. Sin el receptor adecuado, la célula no captará la señal y no responderá a ella. Al producir sólo un grupo limitado de los miles de receptores posibles, la célula restringe los tipos de señales que pueden afectarla.

Por supuesto, una pequeña cantidad de moléculas de señalización extracelular pueden modificar el comportamiento de la célula de muchos modos. Pueden alterar la forma de la célula, sus movimientos, su metabolismo, expresión génica o una combinación de estas características. Como se verá, la señal de un receptor de la superficie celular se suele transmitir al interior de la célula diana mediante una serie de *moléculas de señalización intracelular*, que actúan consecutivamente y, por último, modifican la actividad de las *proteínas efectoras*, que afectan después el comportamiento de la célula. Este sistema de transmisión intracelular y las proteínas efectoras intracelulares sobre las que actúa varían entre los distin-

PREGUNTA 16-1

Para seguir siendo un estímulo local, las moléculas señalizadoras paracrinas no deben alejarse mucho de sus puntos de origen. Sugiera distintas maneras de lograr esto. Explique sus respuestas.

CUADRO 16-1 ALGUNOS EJEMPLOS DE MOLÉCULAS SEÑALIZADORAS

MOLÉCULA SEÑALIZADORA	LUGAR DE ORIGEN	NATURALEZA QUÍMICA	ALGUNAS ACCIONES
Hormonas			
Adrenalina (epinefrina)	Glándula suprarrenal	Derivado del aminoácido tirosina	Aumenta la presión arterial, la frecuencia cardíaca y el metabolismo
Cortisol	Glándula suprarrenal	Esteroide (derivado del colesterol)	Afecta el metabolismo de las proteínas, los hidratos de carbono y los lípidos en la mayoría de los tejidos
Estradiol	Ovario	Esteroide (derivado del colesterol)	Induce y mantiene los caracteres sexuales secundarios femeninos
Glucagón	Células α del páncreas	Péptido	Estimula la síntesis de glucosa, y la degradación del glucógeno y de los lípidos, p. ej., en las células hepáticas y en los adipocitos
Insulina	Células β del páncreas	Proteína	Estimula la captación de glucosa y la síntesis de proteínas y de lípidos, p. ej., en las células hepáticas
Testosterona	Testículos	Esteroide (derivado del colesterol)	Induce y mantiene los caracteres sexuales secundarios masculinos
Hormona tiroidea (tiroxina)	Glándula tiroidea	Derivado del aminoácido tirosina	Estimula el metabolismo de muchos tipos celulares
Mediadores locales			
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Células diversas	Proteína	Estimula la proliferación de células epidérmicas y de muchos otros tipos celulares
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	Células diversas, incluidas plaquetas	Proteína	Estimula la proliferación de muchos tipos celulares
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	Diversos tejidos inervados	Proteína	Promueve la supervivencia de ciertas clases de neuronas; promueve el crecimiento de sus axones
Factor de crecimiento transformador-β (TGF-β)	Muchos tipos celulares	Proteína	Inhibe la proliferación celular; estimula la producción de matriz extracelular
Histamina	Mastocitos	Derivado del aminoácido histidina	Dilata y permeabiliza los vasos sanguíneos y, por ende, contribuye a la inflamación
Óxido nítrico (NO)	Células nerviosas; células endoteliales que revisten los vasos sanguíneos	Gas disuelto	Relaja las células del músculo liso; regula la actividad de las células nerviosas
Neurotransmisores			
Acetilcolina	Terminaciones nerviosas	Derivado de la colina	Neurotransmisor excitador en muchas sinapsis neuromusculares y en el sistema nervioso central
Ácido γ-aminobutírico (GABA)	Terminaciones nerviosas	Derivado del aminoácido ácido glutámico	Neurotransmisor inhibidor en el sistema nervioso central
Moléculas señalizadoras dependientes del contacto			
Delta	Futuras neuronas; otros tipos celulares en desarrollo	Proteína transmembrana	Inhibe la especialización de células vecinas del mismo modo que la célula señalizadora

tos tipos de células especializadas, de manera que cada tipo celular responde a la misma señal de distintas maneras. Por ejemplo, cuando se expone una célula de músculo cardíaco al neurotransmisor *acetilcolina*, disminuyen la frecuencia y la fuerza de contracción, pero si una glándula salival se expone a la misma señal, ésta secreta componentes de la saliva, aunque los receptores son los mismos en ambos tipos de célula. En el músculo esquelético, la acetilcolina hace que las células se contraigan por unión a una proteína receptora diferente (Fig. 16-5). Así, la molécula de señalización extracelular sola no es el mensaje: la información transmitida por la señal depende de cómo ésta es recibida e interpretada por la célula diana.

Una célula típica tiene muchas clases de receptores, cada una presente en decenas o cientos de miles de copias. Esta variedad hace que la célula sea sensible, al mismo tiempo, a muchas señales extracelulares diferentes y permite que una cantidad relativamente pequeña de moléculas señalizadoras, utilizadas en distintas combinaciones, ejerzan control sutil y complejo sobre el comportamiento celular.

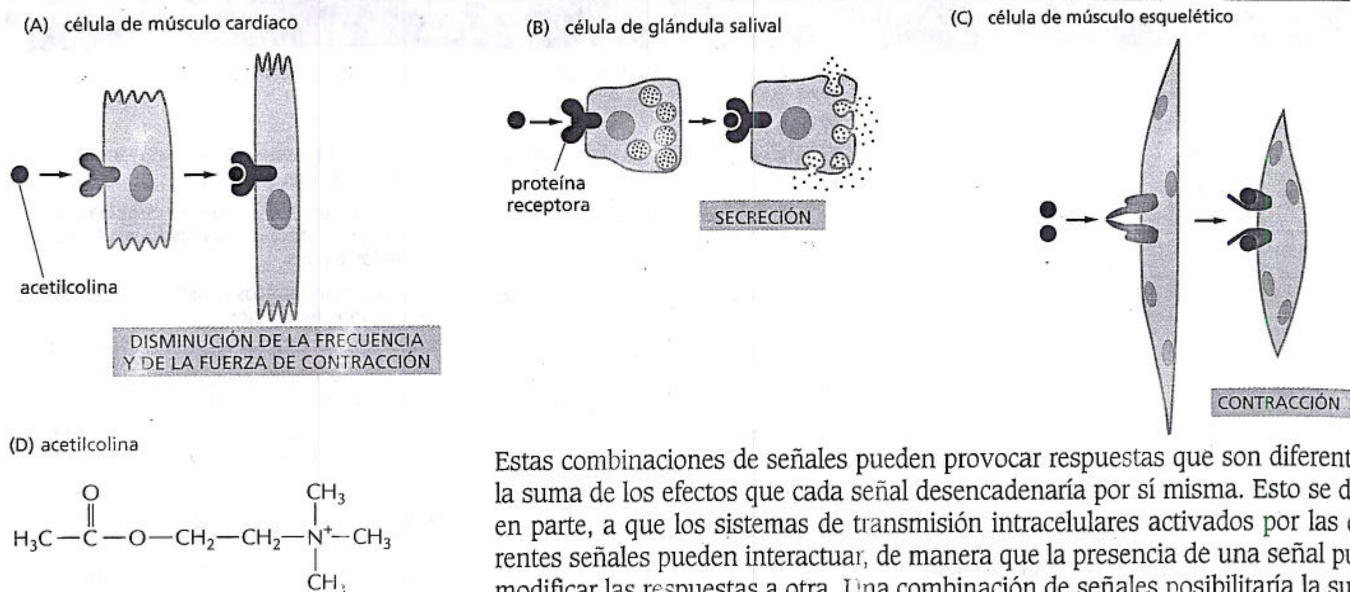


Figura 16-5. La misma molécula señalizadora puede inducir distintas respuestas en diferentes células diana. Diferentes tipos celulares responden al neurotransmisor acetilcolina de distintas maneras. La acetilcolina se une a proteínas receptoras similares en las células del músculo cardíaco (A) y en las células de las glándulas salivales (B), pero provoca distintas respuestas en cada tipo celular. Las células del músculo esquelético (C) producen un tipo distinto de proteína receptora para la misma señal; este receptor genera señales intracelulares que difieren de las generadas por el tipo de receptor de las células miocárdicas. (D) Para ser una molécula tan versátil, la acetilcolina tiene una estructura química bastante simple.

Estas combinaciones de señales pueden provocar respuestas que son diferentes a la suma de los efectos que cada señal desencadenaría por sí misma. Esto se debe, en parte, a que los sistemas de transmisión intracelulares activados por las diferentes señales pueden interactuar, de manera que la presencia de una señal puede modificar las respuestas a otra. Una combinación de señales posibilitaría la supervivencia de la célula; otra podría inducir una diferenciación especializada; y otra podría causar división celular. En ausencia de señales, la mayoría de las células animales están programadas para autodestruirse (Fig. 16-6).

La respuesta de una célula a una señal puede ser rápida o lenta

El tiempo que se toma una célula para responder a una señal extracelular puede variar mucho según lo que deba suceder una vez recibido el mensaje. Algunas señales extracelulares actúan con rapidez: la acetilcolina puede estimular la contracción del músculo esquelético en el término de milisegundos y la secreción salival más o menos en un minuto. Esta respuesta rápida es posible porque, en estos casos, la señal afecta la actividad de las proteínas y otras moléculas que ya están presentes dentro de la célula diana, y que aguardan órdenes de movilizarse.

Otras respuestas demandan mayor tiempo. El crecimiento y la división celular, cuando son desencadenados por las moléculas señalizadoras apropiadas, pueden tardar horas en ser ejecutados. Esto se debe a que la respuesta a estas señales extracelu-

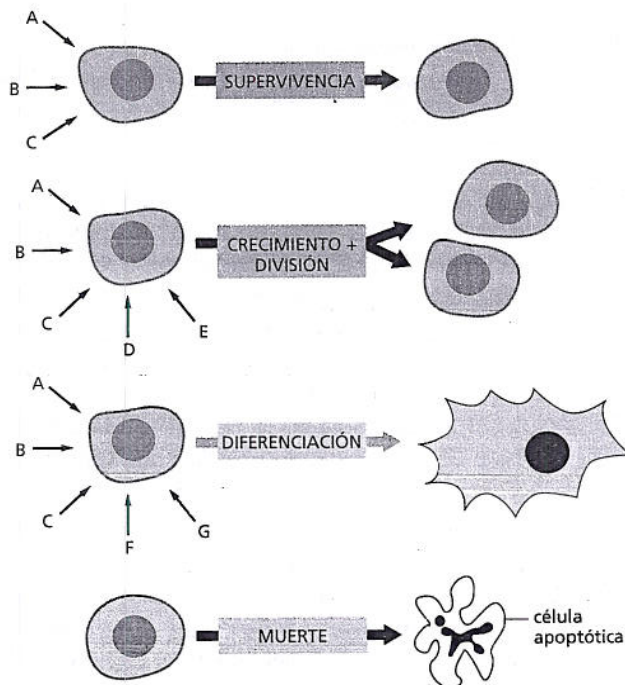


Figura 16-6. Una célula animal depende de múltiples señales extracelulares. Cada tipo celular presenta un conjunto de proteínas receptoras que le permiten responder a un grupo específico de moléculas de señalización extracelular producidas por otras células. Estas moléculas señalizadoras actúan en combinación y regulan el comportamiento de la célula. Como se muestra en la figura, las células pueden requerir múltiples señales (flechas *azules*) para sobrevivir, otras señales (flechas *rojas*) para dividirse y otras señales (flechas *verdes*) para diferenciarse. Si se priva a las células de las señales de supervivencia, la mayoría presenta una forma de suicidio conocida como apoptosis (véase capítulo 18).

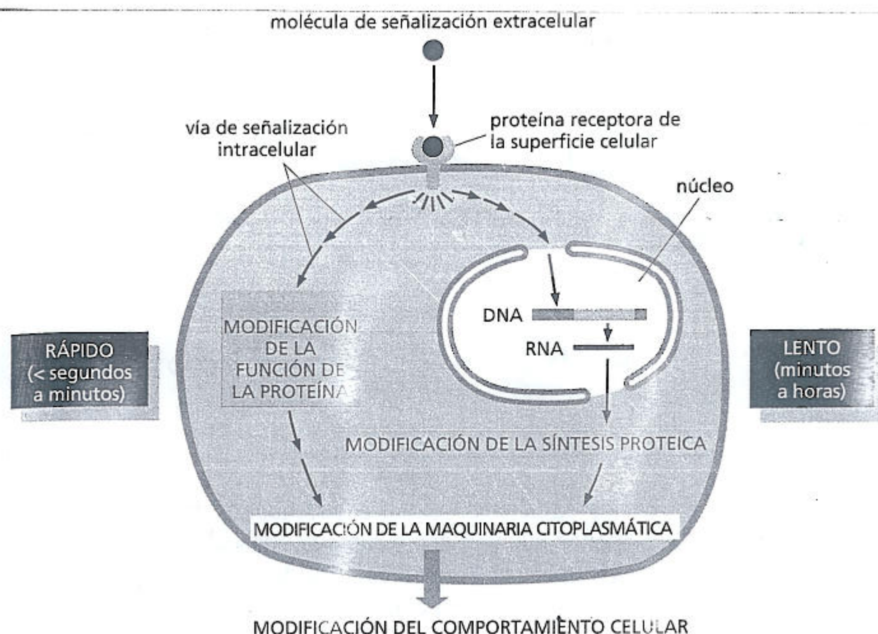


Figura 16-7. Las señales extracelulares pueden actuar en forma lenta o rápida. Ciertos tipos de respuestas celulares –p. ej., mayor crecimiento y división de la célula– implican cambios de la expresión génica y síntesis de nuevas proteínas; por lo tanto, se producen con relativa lentitud. Otras respuestas –p. ej., cambios del movimiento, la secreción o el metabolismo de la célula– no necesitan cambios de la expresión génica y, en consecuencia, son más rápidos (véase fig. 16-5).

lares requiere cambios de la expresión génica y producción de nuevas proteínas (Fig. 16-7). Más adelante en este capítulo, se encontrarán otros ejemplos de respuestas rápidas y lentas, y de las moléculas señalizadoras que las estimulan.

Algunas hormonas atraviesan la membrana plasmática y se unen a receptores intracelulares

Por lo general, las **moléculas de señalización extracelular** pertenecen a dos clases. La primera clase y la más amplia corresponde a moléculas que son demasiado grandes o demasiado hidrófilas para atravesar la membrana plasmática de la célula diana. Dependen de receptores de la superficie de la célula diana para transmitir sus mensajes a través de la membrana (Fig. 16-8A). La segunda clase, más pequeña, consiste en moléculas lo suficientemente pequeñas o hidrófobas como para deslizarse con facilidad a través de la membrana plasmática. Una vez en el interior, estas moléculas señalizadoras suelen activar enzimas o unirse a proteínas receptoras intracelulares que regulan la expresión génica (Fig. 16-8B).

Una clase importante de moléculas señalizadoras que dependen de proteínas receptoras intracelulares son las **hormonas esteroides** –entre ellas, *cortisol*, *estradiol* y *testosterona*– y las *hormonas tiroideas*, como *tiroxina* (Fig. 16-9). Todas estas moléculas hidrófobas atraviesan la membrana plasmática de la célula diana y se unen a proteínas receptoras localizadas en el citosol o en el núcleo. Los receptores tanto citosólicos como nucleares se denominan *receptores nucleares* porque, al ser activados por la unión de la hormona, actúan como reguladores de la transcripción en el núcleo (véase capítulo 8). En células no estimuladas, los receptores nucleares suelen estar presentes en una forma inactiva. Cuando se une una hormona, el receptor presenta un gran cambio conformacional que activa la proteína, lo que le permite promover o inhibir la transcripción de genes diana específicos (Fig. 16-10). Cada hormona se une a una proteína receptora distinta y cada receptor actúa sobre un conjunto diferente de sitios reguladores del DNA (véase capítulo 8). Además, un hormona dada regula, en general, diferentes grupos de genes en distintos tipos celulares, lo que provoca diferentes respuestas fisiológicas en distintos tipos de células diana.

Los receptores nucleares y las hormonas que los activan desempeñan un papel esencial en la fisiología humana (véase cuadro 16-1, p. 535). La pérdida de estos sistemas de señalización puede tener consecuencias sustanciales, como ilustra el caso de individuos que carecen de receptores de la hormona sexual masculina testosterona. En los seres humanos, la testosterona, modela la formación de los genitales externos e influye en el desarrollo cerebral del feto; en la pubertad, desenca-

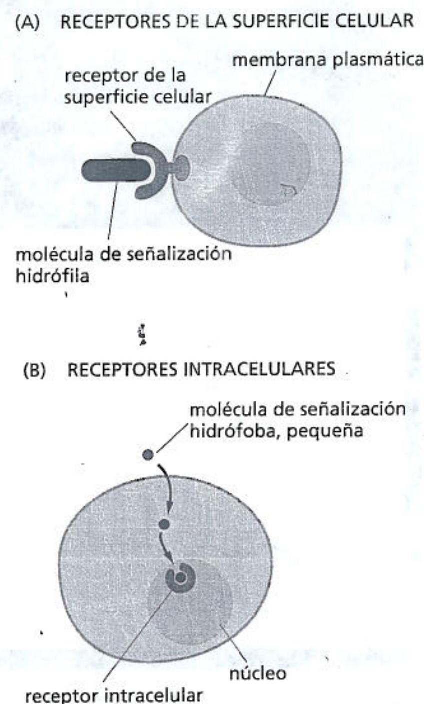


Figura 16-8. Las moléculas de señalización extracelular se unen a receptores de la superficie celular o a enzimas o receptores intracelulares. (A) La mayoría de las moléculas de señalización extracelular son grandes e hidrófilas y, por ende, no pueden atravesar la membrana plasmática directamente; en lugar de ello, se unen a receptores de superficie celular que, a su vez, generan una o más moléculas de señalización dentro de la célula diana. (B) En cambio, algunas moléculas señalización extracelular pequeñas, hidrófobas, difunden a través de la membrana plasmática de la célula diana y activan directamente las enzimas o se unen a receptores intracelulares del citosol o del núcleo (como se muestra en la figura).

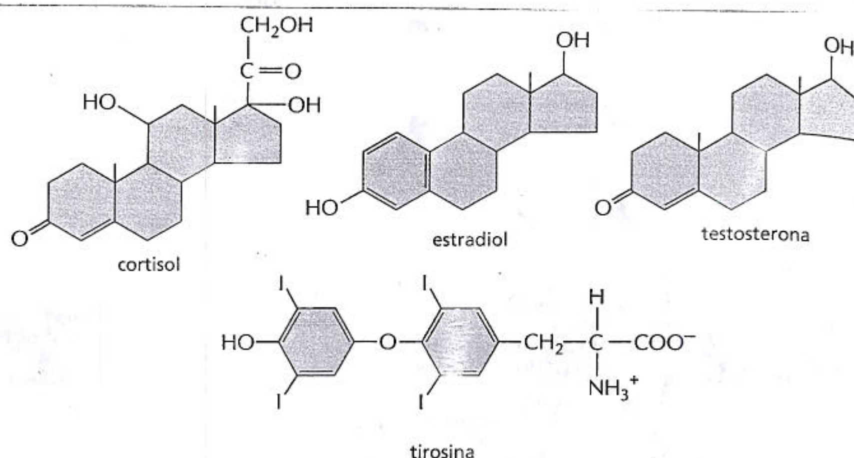
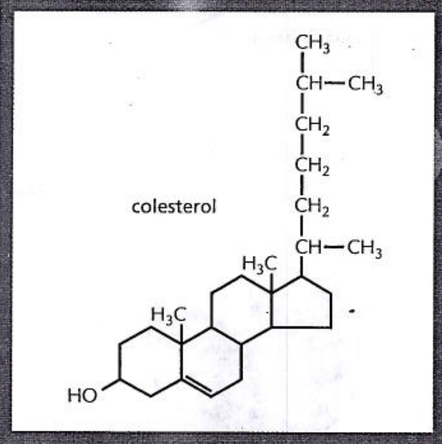


Figura 16-9. Algunas hormonas hidrófobas pequeñas se unen a receptores intracelulares que actúan como proteínas reguladoras de la transcripción. Si bien estas moléculas señalizadoras difieren en su estructura química y sus funciones, todas actúan por unión a proteínas receptoras intracelulares. Sus receptores no son idénticos, pero están relacionados entre sí desde el punto de vista evolutivo, y pertenecen a la *superfamilia de receptores nucleares* de reguladores de la transcripción. El cuadro 16-1 (p. 535) presenta los sitios de origen y las funciones de estas hormonas.

dena el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios masculinos. Existen casos muy raros de personas que son genéticamente masculinos –es decir, tienen un cromosoma X y un cromosoma Y– pero carecen de receptores de testosterona como consecuencia de una mutación en el gen correspondiente; por lo tanto, sintetizan testosterona, pero sus células no pueden responder a ella. En consecuencia, estos individuos se desarrollan como mujeres, la vía del desarrollo sexual y cerebral que se produciría en ausencia de hormonas femeninas y masculinas. Una inversión del sexo de este tipo demuestra el papel crucial del receptor de testosterona en el desarrollo sexual, y también muestra que el receptor no sólo es necesario en un tipo celular que media uno de los efectos de la testosterona, sino en muchos tipos celulares que producen todas las características que distinguen al hombre de la mujer.

PREGUNTA 16-2

Considere la estructura del colesterol, una molécula hidrófoba pequeña con un esqueleto de esterol similar al de tres de las hormonas mostradas en la figura 16-11, pero que tiene menos grupos polares, como –OH, =O, y –COO-. Si el colesterol no formara parte de la membrana celular, ¿podría ser usado en forma eficaz como una hormona en caso de que se desarrollara un receptor intracelular apropiado?



Algunos gases disueltos atraviesan la membrana plasmática y activan directamente enzimas intracelulares

Las hormonas esteroides y las hormonas tiroideas no son las únicas moléculas de señalización extracelular que pueden atravesar la membrana plasmática. Algunos gases disueltos pueden deslizarse a través de la membrana hacia el interior de la célula y regular directamente la actividad de determinadas proteínas intracelulares. Este enfoque directo permite que las señales modifiquen la célula en unos pocos segundos o minutos. El **óxido nítrico (NO)** actúa de esta manera. El NO abandona con facilidad por difusión la célula que lo genera e ingresa en células

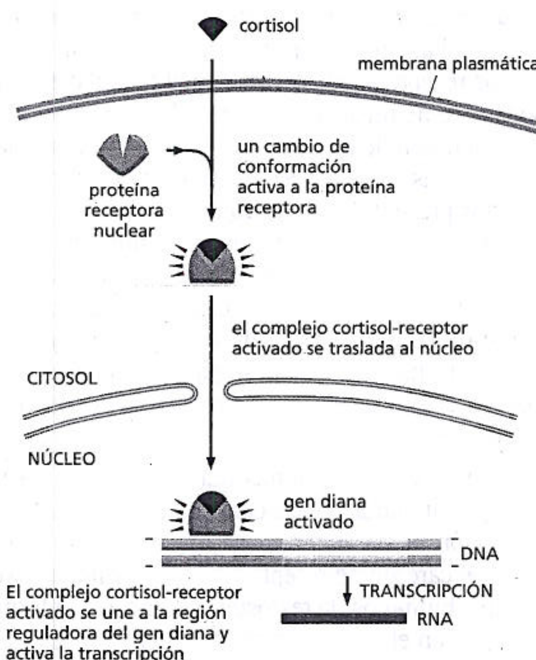
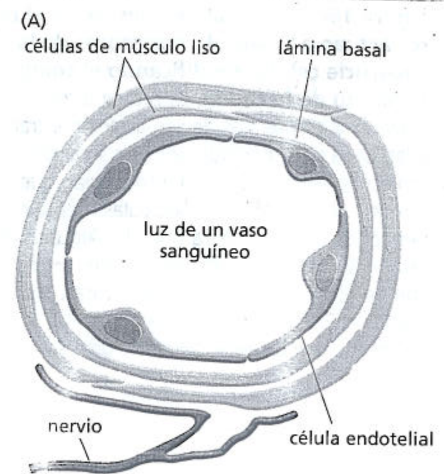


Figura 16-10. La hormona esteroide cortisol actúa activando un regulador de la transcripción. El cortisol es una de las hormonas producidas por la glándula suprarrenal en respuesta al estrés. Difunde directamente a través de la membrana plasmática y se une a su proteína receptora, que está localizada en el citosol. Después, el complejo hormona-receptor es transportado hacia el núcleo a través de los poros nucleares. La unión al cortisol activa la proteína receptora, que entonces se puede unir a secuencias reguladoras específicas del DNA y activar (o reprimir, no mostrado) la transcripción de determinados genes diana. Mientras que los receptores de cortisol y de algunas otras hormonas esteroides se localizan en el citosol, los de otras moléculas señalizadoras de esta familia ya están unidos al DNA del núcleo, aun en ausencia de hormona.



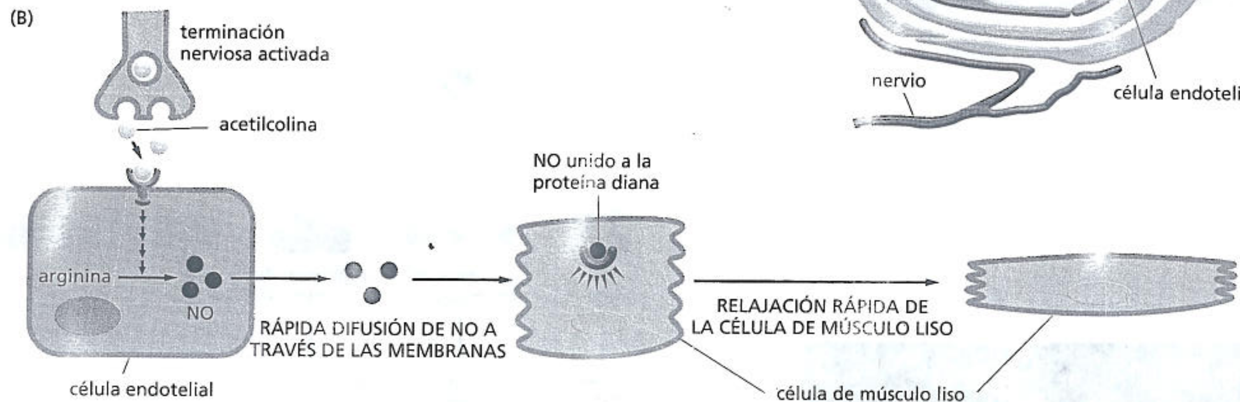




Figura 16-11. El óxido nítrico (NO) desencadena la relajación del músculo liso de la pared de un vaso sanguíneo. (A) El dibujo muestra un nervio en contacto con un vaso sanguíneo. (B) Secuencia de procesos que llevan a la dilatación del vaso sanguíneo. Las terminaciones nerviosas de la pared del vaso sanguíneo liberan acetilcolina. Ésta difunde más allá de las células de músculo liso y a través de la lámina basal (no mostrado) y alcanzan los receptores colinérgicos de la superficie de las células endoteliales que revisten el vaso sanguíneo. Allí, estimula la producción y liberación de NO por las células endoteliales. El NO difunde fuera de las células endoteliales y penetra en las células de músculo liso adyacentes, donde regula la actividad de proteínas específicas, lo que causa la relajación de las células musculares. (C) Una proteína diana que puede ser activada por NO es la guanilatociclasa. La ciclasa activada cataliza la producción de cGMP a partir de GTP. Obsérvese que el NO gaseoso es muy tóxico cuando se inhala, y no se lo debe confundir con el óxido nitroso (N_2O), conocido también como el gas de la risa.

vecinas. Este gas se sintetiza a partir del aminoácido arginina y actúa como mediador local en muchos tejidos. El gas actúa sólo en forma local porque se convierte rápidamente en nitratos y nitritos (con una vida media de alrededor de 5 a 10 segundos) al reaccionar con el oxígeno y el agua fuera de las células.

Las células endoteliales –células aplanadas que revisten todos los vasos sanguíneos– liberan NO en respuesta a la estimulación de las terminaciones nerviosas. Esta señal de NO causa la relajación de las células de músculo liso de las paredes vasculares, lo que permite que el vaso se dilate y que la sangre fluya con mayor libertad (Fig. 16-11). El efecto del NO sobre los vasos sanguíneos explica la acción de la nitroglicerina, que se utiliza desde hace casi 100 años para el tratamiento de los pacientes con angina, dolor causado por flujo sanguíneo inadecuado del miocardio. En el organismo, la nitroglicerina se convierte en NO, que relaja rápidamente los vasos sanguíneos con la consiguiente reducción de la carga de trabajo del corazón y de la necesidad de sangre rica en oxígeno del músculo. Muchas células nerviosas también envían señales a células vecinas a través del NO: el NO liberado por las terminaciones nerviosas del pene, por ejemplo, provoca la vasodilatación local responsable de la erección.

En el interior de muchas de las células diana, el NO se une a la enzima *guanilatociclasa* y la activa, lo que estimula la formación de *GMP cíclico* a partir del nucleótido GTP (véase Fig. 16-11C). El GMP cíclico es, por sí mismo, una pequeña molécula de señalización intracelular que forma el siguiente eslabón en la cadena de señalización del NO que lleva a la respuesta final de la célula. El fármaco contra la impotencia, Viagra®, mejora la erección del pene por bloqueo de la enzima que degrada el GMP cíclico, lo que prolonga la señal del NO. El GMP cíclico tiene una estructura y un mecanismo de acción muy similares a los del *AMP cíclico*, una molécula mensajera intracelular utilizada con mucha mayor frecuencia que se analizará más adelante.

Los receptores de la superficie celular transmiten señales extracelulares a través de vías de señalización intracelular

A diferencia del NO y de las hormonas esteroides y tiroideas, la vasta mayoría de las moléculas señalizadoras son demasiado grandes o hidrófilas como para atra-

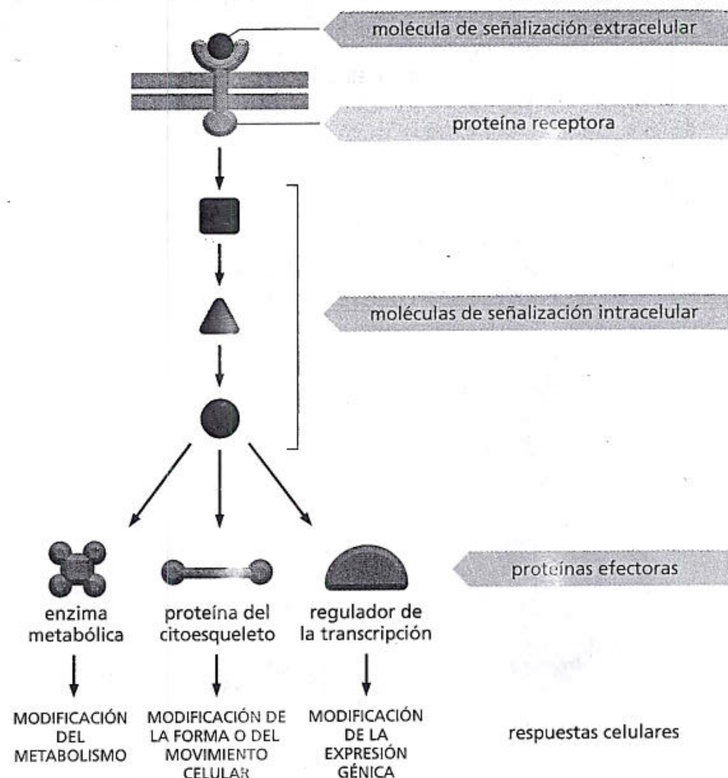


Figura 16-12. Muchas señales extracelulares actúan a través de receptores de la superficie celular modificando el comportamiento de la célula. La proteína receptora activa una o más vías de señalización intracelular, cada una mediada por una serie de moléculas de señalización intracelular, que pueden ser proteínas o moléculas mensajeras pequeñas; sólo se ilustra una vía. Algunas de estas moléculas de señalización interactúan con determinadas proteínas efectoras, las modifican y cambian, por consiguiente, el comportamiento de la célula de diversas maneras.

PREGUNTA 16-3

En principio, ¿cómo podría una proteína de señalización intracelular amplificar una señal a medida que la transmite?

vesar la membrana celular de la célula diana. Estas proteínas, péptidos y pequeñas moléculas muy hidrosolubles se unen a proteínas receptoras de la superficie celular que se distribuyen en la membrana plasmática (véase Fig. 16-8A). Estos receptores transmembrana detectan una señal del exterior y transmiten el mensaje, en una forma nueva, a través de la membrana hacia el interior de la célula.

La proteína receptora realiza el primer paso de la transducción de señales: se le une la señal extracelular lo que genera como respuesta nuevas señales intracelulares (véase Fig. 16-2B). Por lo general, el proceso de señalización intracelular resultante actúa como una carrera de relevo molecular, en la que el mensaje es pasado 'corriente abajo' de una **molécula de señalización intracelular** a otra, cada una de las cuales activa o genera la siguiente molécula señalizadora de la vía, hasta que se activa una enzima metabólica, el citoesqueleto adopta una nueva configuración, o un gen es activado o desactivado. Este resultado final se denomina *respuesta* celular (**Fig. 16-12**).

Los componentes de estas **vías de señalización intracelular** cumplen una o más funciones cruciales (**Fig. 16-13**).

1. Pueden simplemente *transmitir* la señal, lo que ayuda a propagarla por la célula.
2. Pueden *amplificar* la señal recibida e intensificarla, de manera que unas pocas señales extracelulares sean suficientes para provocar una gran respuesta intracelular.
3. Pueden recibir señales de más de una vía de señalización intracelular e *integrarlas* antes de transmitir una señal.
4. Pueden *distribuir* la señal a más de una vía de señalización o proteína efectora, lo que crea ramificaciones en el diagrama de flujo de información y provoca una respuesta compleja.

Como parte de la función de integración, muchos pasos de una vía de señalización están sujetos a *modulación* por otros factores, incluidos factores intracelulares y extracelulares, de manera que los efectos de cada señal se ajustan a las condiciones que prevalecen en el interior y en el exterior de la célula.

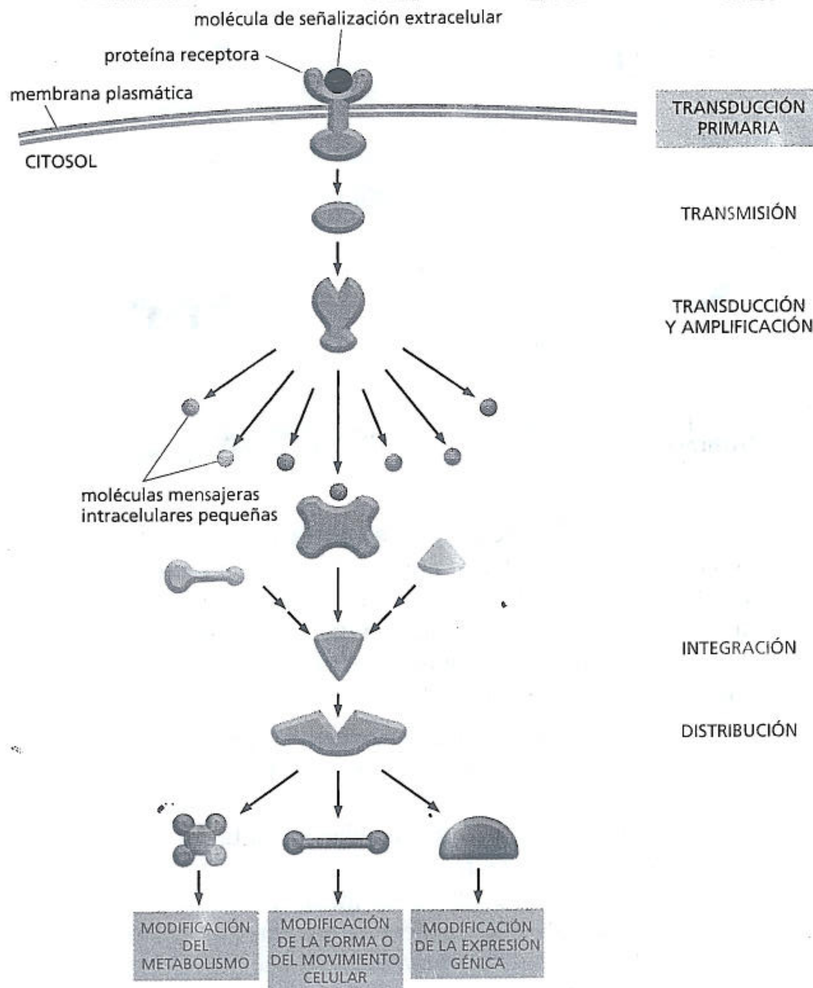


Figura 16-13. Las proteínas de señalización intracelular pueden transmitir, amplificar, integrar y distribuir la señal que ingresa. Una proteína receptora localizada en la superficie celular transduce una señal extracelular a una señal intracelular, lo que inicia una o más vías de señalización que transmiten la señal hacia el interior de la célula. Cada vía incluye proteínas de señalización intracelular que pueden funcionar en una de las diversas maneras mostradas; por ejemplo, algunas integran señales a partir de otras vías de señalización, como se ilustra. Muchos de los pasos del proceso pueden ser modulados por otras moléculas o eventos celulares (no mostrado). Más adelante en este capítulo, se analiza la producción y función de pequeñas moléculas mensajeras intracelulares.

Algunas proteínas de señalización intracelular actúan como interruptores moleculares

Muchas de las proteínas de señalización intracelular clave se comportan como **interruptores moleculares**: la recepción de una señal las hace pasar de un estado inactivo a un estado activo. Una vez activadas, estas proteínas pueden activar a otras proteínas de la vía de señalización. Luego, persisten en estado activo hasta que algún otro proceso las devuelve al estado inactivo. Con frecuencia, se menosprecia la importancia del proceso de desactivación. Para que una vía de señalización se recupere después de transmitir una señal y esté preparada para transmitir otra, cada proteína activada de la vía debe ser reajustada a su estado original, no estimulado. Por ende, para cada paso de activación de la vía, debe haber un mecanismo de desactivación. Ambos mecanismos son de igual importancia en el proceso de señalización.

Las proteínas que actúan como interruptores moleculares casi siempre pertenecen a una de dos clases. La primera, y por lejos la más grande, está compuesta por proteínas que son activadas o desactivadas por fosforilación, una modificación química analizada en el capítulo 4 (véase Fig. 4-38). En estas moléculas, una **proteincinasa** desplaza al interruptor en una dirección al agregarle un grupo fosfato a la proteína interruptora, y una **proteinfosfatasa** lo desplaza en la dirección opuesta al volver a quitarle el fosfato (**Fig. 16- 14A**). La actividad de cualquier proteína regulada por fosforilación depende –en cada momento– del equilibrio entre las actividades de las cinasas que la fosforilan y de las fosfatasas que la desfosforilan.

Muchas de las proteínas interruptoras controladas por fosforilación son proteincinasas, que suelen estar organizadas en *cascadas de fosforilación*: una proteinci-

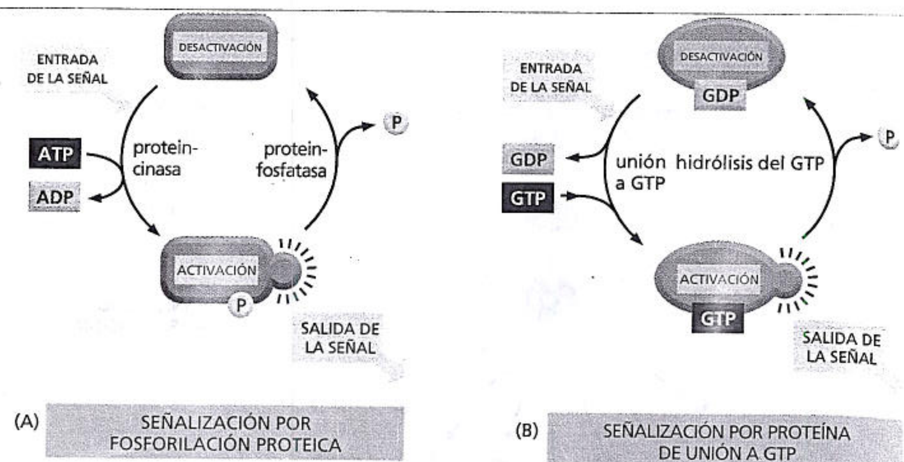


Figura 16-14. Muchas proteínas de señalización intracelular actúan como interruptores moleculares. (A) Algunas proteínas de señalización intracelular se activan por adición de un grupo fosfato y se desactivan por eliminación del fosfato. En algunos casos, el fosfato se une en forma covalente a la proteína por acción de una proteincinasa que transfiere el grupo fosfato terminal del ATP a la proteína señalizadora; luego, una fosfatasa elimina el fosfato. (B) En otros casos, se induce a una proteína señalizadora de unión al GTP a intercambiar su GDP unido por GTP (lo que, en un sentido, suma un fosfato a la proteína). Esto activa la proteína; luego, la hidrólisis del GTP a GDP desactiva la proteína.

nasa, activada por fosforilación, fosforila la siguiente proteincinasa de la secuencia, y así sucesivamente, lo que transmite la señal y, en el proceso, la amplifica, la distribuye y la modula. Dos tipos principales de proteincinasas operan en las vías de señalización intracelular: las más comunes son **serina/treonina cinasas**, que –como su nombre lo implica– fosforilan proteínas en serinas o treoninas; otras son **tirosincinasas**, que fosforilan las proteínas en tirosinas.

La segunda clase importante de proteínas interruptoras que participan en las vías de señalización intracelular son **proteínas de unión a GTP**. Estas proteínas pasan de un estado activo a un estado inactivo según estén unidas a GTP o a GDP, respectivamente (Fig. 16-14B). Una vez activadas por la unión a GTP, estas proteínas tienen actividad intrínseca de hidrólisis del GTP (*GTPasa*), y se desactivan a sí mismas hidrolizando el GTP al que están unidas a GDP. Una clase de proteínas interruptoras activadas por GTP contiene la proteínas de unión a GTP grandes, triméricas (denominadas también *proteínas G*), que transmiten mensajes de los *receptores acoplados a proteínas G*, como se analizará en detalle.

Hay tres clases principales de receptores de la superficie celular

Todas las proteínas receptoras de la superficie celular unen una molécula de señalización extracelular y transducen su mensaje hacia una o más moléculas de señalización intracelular que modifican el comportamiento de la célula. Sin embargo, estos receptores se dividen en tres grandes familias que difieren en el mecanismo de transducción empleado. (1) Los *receptores acoplados con canales iónicos* permiten un flujo de iones a través de la membrana, que cambia el potencial de membrana y genera una corriente eléctrica (Fig. 16-15A). (2) Los *receptores acoplados a proteínas G* activan proteínas de unión a GTP triméricas, unidas a la membrana (proteínas G), que después activan una enzima o un canal iónico de la membrana plasmática, lo que desencadena una cascada de otros efectos (Fig. 16-15B). (3) Los *receptores acoplados a enzimas* actúan como enzimas o se asocian con enzimas en el interior de la célula (Fig. 16-15C); cuando son estimuladas, las enzimas activan diversas vías de señalización intracelular.

El número de tipos de receptores diferentes de cada una de estas tres clases es aún mayor que el número de señales extracelulares que actúan sobre ellos, porque muchas moléculas de señalización extracelular tienen más de un tipo de receptor. Además, algunas moléculas señalizadoras se unen a receptores de más de una clase. Por ejemplo, el neurotransmisor acetilcolina actúa sobre las células de músculo esquelético a través de un receptor acoplado a un canal iónico, mientras que en las células de músculo cardíaco actúa a través de un receptor acoplado a proteínas G. Estos dos tipos de receptores generan distintas señales intracelulares, lo que permite que los dos tipos de célula muscular reaccionen a la acetilcolina de diferentes maneras: en el músculo esquelético, aumenta la contracción, y en el

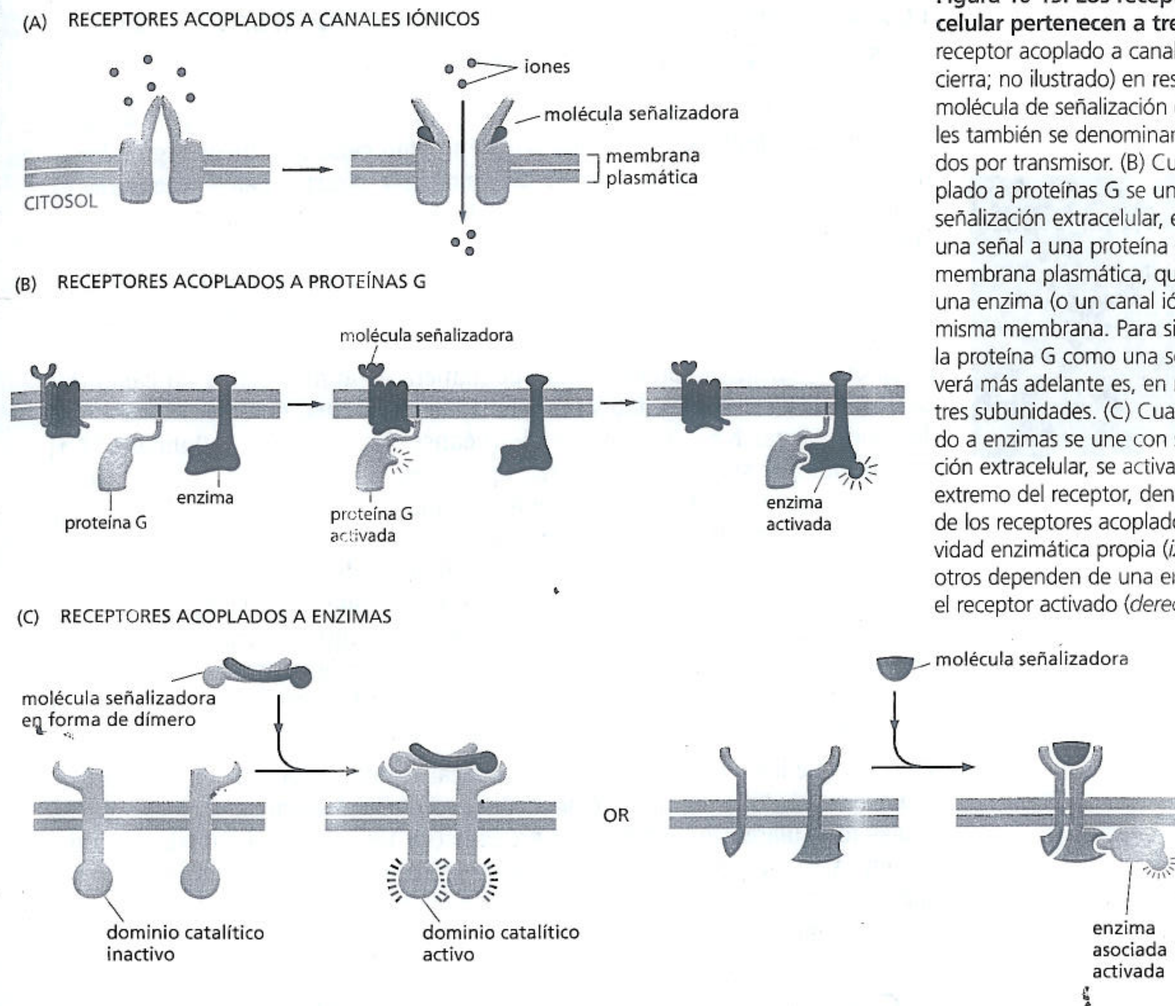


Figura 16-15. Los receptores de la superficie celular pertenecen a tres clases básicas. (A) Un receptor acoplado a canales iónicos se abre (o se cierra; no ilustrado) en respuesta a la unión a su molécula de señalización extracelular. Estos canales también se denominan canales iónicos regulados por transmisor. (B) Cuando un receptor acoplado a proteínas G se une a su molécula de señalización extracelular, el receptor activado envía una señal a una proteína G del lado opuesto de la membrana plasmática, que activa (o desactiva) una enzima (o un canal iónico; no ilustrado) de la misma membrana. Para simplificar, aquí se ilustra la proteína G como una sola molécula; como se verá más adelante es, en realidad, un complejo de tres subunidades. (C) Cuando un receptor acoplado a enzimas se une con su molécula de señalización extracelular, se activa una enzima en el otro extremo del receptor, dentro de la célula. Muchos de los receptores acoplados a enzimas tienen actividad enzimática propia (*izquierda*), mientras que otros dependen de una enzima que se asocia con el receptor activado (*derecha*).

corazón, disminuye la frecuencia y la fuerza de las contracciones (véanse Figs. 16-5A y C).

Los numerosísimos receptores de la superficie celular que requiere el organismo en la señalización también son dianas de muchas sustancias extrañas que interfieren con nuestra fisiología y con nuestras sensaciones, de heroína y nicotina a tranquilizantes y chiles (tipo ají picante). Estas sustancias imitan al ligando natural de un receptor y ocupan el sitio de unión al ligando normal, o se unen al receptor en algún otro sitio y bloquean o hiperestimulan su actividad natural. Muchos fármacos y tóxicos actúan de esta manera (**cuadro 16-2**), y una gran parte de la industria farmacéutica se dedica a la búsqueda de sustancias que puedan ejercer un efecto preciso y bien definido al unirse a un tipo específico de receptor de la superficie celular.

CUADRO 16-2 ALGUNAS SUSTANCIAS EXTRAÑAS QUE PUEDEN ACTUAR SOBRE RECEPTORES DE LA SUPERFICIE CELULAR

SUSTANCIA	MOLÉCULA SEÑALIZADORA	ÁCCIÓN DEL RECEPTOR	EFECTO
Valium® y barbitúricos	Ácido γ-aminobutírico (GABA)	Estimula los receptores acoplados a canales iónicos activados por GABA	Alivio de la ansiedad; sedación
Nicotina	Acetilcolina	Estimula los receptores acoplados a canales iónicos activados por acetilcolina	Vasoconstricción; aumento de la presión arterial
Morfina y heroína	Endorfinas y encefalinas	Estimula los receptores opioides acoplados a proteínas G	Analgesia (alivio del dolor); euforia
Curare	Acetilcolina	Bloquea los receptores acoplados a canales iónicos activados por acetilcolina	Bloqueo de la transmisión neuromuscular que causa parálisis
Estricnina	Glicina	Bloquea los receptores acoplados a canales iónicos activados por glicina	Bloqueo de las sinapsis inhibitorias de la médula espinal, que provoca convulsiones y espasmo muscular

Los receptores acoplados a canales iónicos transforman las señales químicas en señales eléctricas

De todos los tipos de receptores de la superficie celular, los **receptores acoplados a canales iónicos** (conocidos también como canales iónicos regulados por transmisor) actúan de la manera más simple y directa. Estos receptores son responsables de la transmisión rápida de señales a través de las sinapsis del sistema nervioso. Transducen una señal química, en forma de un pulso de neurotransmisor enviado al exterior de la célula diana, en una señal eléctrica, en forma de un cambio de voltaje a través de la membrana plasmática de la célula diana (véase Fig. 12-42). Cuando se une el neurotransmisor, este tipo de receptor modifica su conformación, de manera de abrir o cerrar un canal iónico de la membrana plasmática, lo que posibilita el flujo de determinados tipos de iones, como Na^+, K^+, Ca^{2+} o Cl^- (véanse Fig. 16-15A y **Película 16.1**). Impulsados por sus gradientes electroquímicos, los iones se precipitan hacia el interior o hacia el exterior de la célula, lo que genera un cambio del potencial de membrana en alrededor de un milisegundo. Este cambio del potencial puede desencadenar un impulso nervioso o facilitar (o dificultar) que otros neurotransmisores lo hagan. Como se analizará más adelante, la apertura de los canales de Ca^{2+} tiene otros efectos importantes, porque los cambios de la concentración intracelular de Ca^{2+} pueden alterar profundamente las actividades de muchas proteínas celulares que responden al Ca^{2+}. El capítulo 12 considera con más detalle la función de los receptores acoplados a canales iónicos.

PREGUNTA 16-4

Los mecanismos de señalización utilizados por un receptor nuclear de tipo hormona esteroide y por un receptor acoplado a canales iónicos son relativamente simples y constan de pocos componentes. ¿Pueden inducir la amplificación de la señal inicial y, de ser así, cómo?

Mientras que los receptores acoplados a canales iónicos son una especialidad del sistema nervioso y de otras células con excitabilidad eléctrica, por ejemplo las células musculares, los acoplados a proteína G y los acoplados a enzimas participan en casi todos los tipos celulares del organismo. La mayor parte del resto de este capítulo considera estas dos familias de receptores y los procesos de transducción de señales que utilizan.

RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G

Los **receptores acoplados a proteínas G (GPCR)** constituyen la familia más grandes de receptores de la superficie celular. Hay más de 700 GPCR en los seres humanos, y los ratones tienen alrededor de 1.000 relacionados sólo con el sentido del olfato. Estos receptores median las respuestas a una enorme diversidad de moléculas de señalización extracelular, entre ellas hormonas, mediadores locales y neurotransmisores. Las moléculas señalizadoras son tan variadas en su estructura como en su función: pueden ser proteínas, péptidos pequeños o derivados de aminoácidos o ácidos grasos, y para cada una de ellas hay un receptor o grupo de receptores diferente. Como los GPCR intervienen en una variedad tan grande de procesos celulares, son una diana atractiva para el desarrollo de fármacos destinados a tratar diferentes trastornos. Alrededor de la mitad de los fármacos conocidos actúan a través de los GPCR.

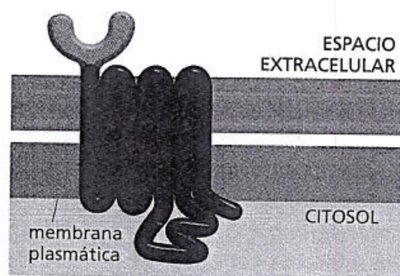


Figura 16-16. Todos los GPCR tienen una estructura similar. Las porciones citoplasmáticas del receptor son responsables de la unión a la proteína G dentro de la célula. Por lo general, los receptores que se unen a moléculas de señalización proteicas tienen un gran dominio extracelular (*verde claro*). Este dominio, junto con algunos de los segmentos transmembrana, se une al ligando proteico. En cambio, los receptores que reconocen moléculas señalizadoras pequeñas, como la adrenalina, tienen dominios extracelulares pequeños, y el ligando suele unirse en profundidad dentro del plano de la membrana a un sitio formado por aminoácidos de varios segmentos transmembrana (no mostrado).

Pese a la diversidad de moléculas señalizadoras que pueden unirse a ellos, todos los GPCR analizados tienen una estructura similar, están compuestos por una sola cadena polipeptídica que atraviesa siete veces la bicapa lipídica en una y otra dirección (**Fig. 16-16**). Esta superfamilia de *proteínas receptoras transmembrana de siete segmentos* incluye la rodopsina (la proteína fotorreceptora del ojo de los vertebrados que se activa por la luz), los receptores olfativos presentes en la nariz de los vertebrados y los receptores que participan en los rituales de apareamiento de las levaduras unicelulares (véase Fig. 16-1). Desde el punto de vista evolutivo, los GPCR son antiguos: aun las bacterias tienen proteínas de membrana similares, como la bacteriorrodopsina que funciona como bomba de H^+ impulsada por la luz (véase Fig. 11-28). Si bien se asemejan a los GPCR eucariontes, estos receptores bacterianos no actúan a través de proteínas G, sino que se acoplan a otros sistemas de transducción de señales.

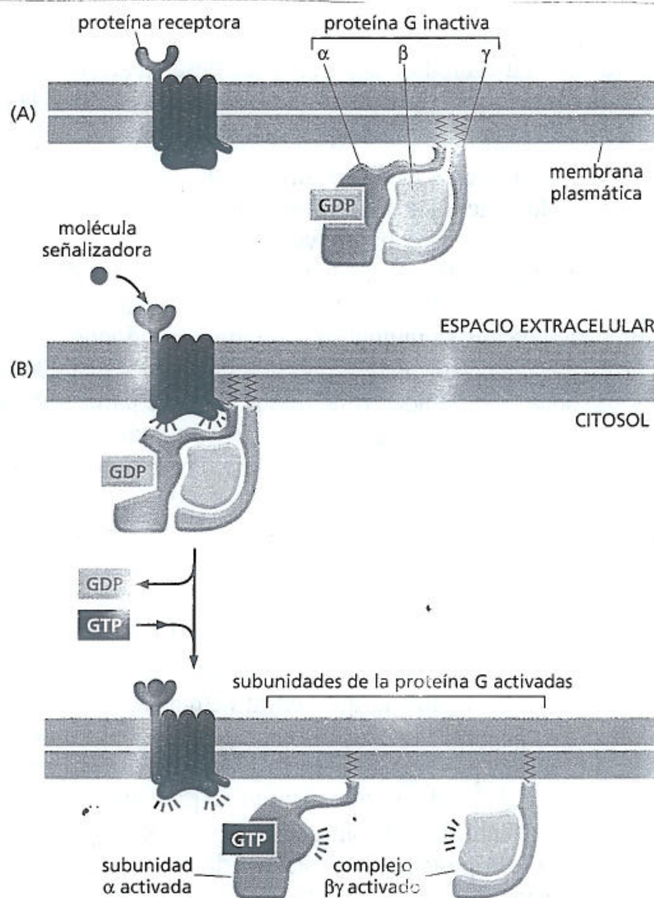


Figura 16-17. Un GPCR activado activa a las proteínas estimulando a la subunidad α a expulsar su GDP y captar GTP. (A) En el estado no estimulado, tanto el receptor como la proteína G están inactivos. Pese a que aquí se muestran como entidades separadas en la membrana plasmática, en algunos casos, por lo menos, están asociados en un complejo preformado. (B) La unión de una señal extracelular al receptor modifica su conformación, lo que, a su vez, modifica la conformación de la proteína G unida a él. La alteración de la subunidad α de la proteína G le permite intercambiar su GDP por GTP. Este intercambio desencadena un cambio conformacional que activa tanto a la subunidad α como al complejo βγ, que ahora pueden interactuar con sus proteínas diana preferidas de la membrana plasmática (Película 16.2). El receptor permanece activo mientras la molécula de señalización externa permanece unida a él y, por lo tanto, puede catalizar la activación de muchas moléculas de proteína G. Aunque al principio se pensaba que la activación de una proteína G siempre causa la disociación física de la subunidad α y del complejo βγ (como se ilustra aquí), en algunos casos el trímero podría sólo abrirse, lo que permitiría que la subunidad α activada y el complejo βγ interactuaran con una proteína diana. Obsérvese que las subunidades tanto α como γ de la proteína G están unidas en forma covalente a moléculas lipídicas (*negro*) que las ayudan a anclarse en la membrana plasmática.

La estimulación de los GPCR activa las subunidades de las proteínas G

Cuando una molécula de señalización extracelular se une a un GPCR, la proteína receptora sufre un cambio de conformación que le permite activar a una **proteína G** localizada en la superficie inferior de la membrana plasmática. Para explicar cómo esta activación induce la transmisión de la señal, se debe considerar primero cómo se constituyen y funcionan las proteínas G.

Hay distintas variedades de proteínas G. Cada una de ellas es específica para un determinado grupo de receptores y un determinado grupo de proteínas diana o de canales iónicos de la membrana plasmática. Sin embargo, todas estas proteínas G tienen una estructura general similar y funcionan de manera semejante. Están compuestas por tres subunidades proteicas –α, β y γ– dos de las cuales están fijadas a la membrana plasmática por colas lipídicas cortas. En el estado no estimulado, la subunidad α está unida a GDP y la proteína G es inactiva (Fig. 16-17A). Cuando un ligando extracelular se une a su receptor, el receptor alterado activa una proteína G haciendo que la subunidad α disminuya su afinidad por el GDP, que después es intercambiando por una molécula de GTP. En algunos casos, se considera que esta activación escinde las subunidades de proteína G: la subunidad α activada, unida al GTP, se separa del complejo βγ, que también es activado (Fig. 16-17B). Independientemente de si se disocian o no, las dos partes activadas de una proteína G –la subunidad α y el complejo βγ– pueden interactuar en forma directa con proteínas diana de la membrana plasmática que, a su vez, pueden transmitir la señal a otros destinos de la célula. Cuanto más tiempo esté unida una subunidad α o una subunidad βγ a las proteínas diana, más fuerte y más prolongada será la señal transmitida.

El comportamiento de la subunidad α limita el tiempo que las subunidades α y βγ permanecen 'activadas', y por ende, disponibles para transmitir señales. La subunidad α tiene actividad GTPasa intrínseca y, finalmente, hidroliza el GTP unido de

nuevo a GDP, lo que vuelve a toda la proteína G a su conformación original, inactiva (Fig. 16-18). La hidrólisis del GTP y la desactivación tienen lugar pocos segundos después de que la proteína G ha sido activada. Ahora, la proteína G está lista para ser reactivada por otro receptor activado.

Este interruptor de proteína G demuestra un principio general de señalización celular mencionado antes: los mecanismos que desactivan una señal son tan importantes como los que la activan (véase Fig. 16-14B). Asimismo, los mecanismos de desactivación ofrecen las mismas oportunidades de control y los mismos riesgos de error. Considérese, por ejemplo, el cólera. La enfermedad es causada por una bacteria que se multiplica en el intestino, donde produce una proteína llamada *toxina del cólera*. Esta proteína ingresa en las células que revisten el intestino y modifica la subunidad α de una proteína G particular (denominada G_s porque estimula la enzima adenilatociclasa, que se estudiará enseguida) de manera que ésta ya no pueda hidrolizar su GTP unido. Por lo tanto, la subunidad α alterada permanece en estado activo en forma indefinida y transmite continuamente una señal a sus proteínas diana. En las células intestinales, esto provoca un flujo prolongado y excesivo de Cl^- y agua hacia el intestino, lo que causa diarrea y deshidratación catastróficas. El cuadro con frecuencia causa la muerte, a menos que se tomen medidas urgentes para reponer el agua y los iones perdidos.

PREGUNTA 16-5

Los GPCR activan a las proteínas G al disminuir la fuerza de su enlace al GDP. Esto determina una rápida disociación del GDP unido, que es reemplazado por GTP, porque la concentración citosólica de GTP es mucho más alta que la de GDP. ¿Qué consecuencias podría tener una mutación de la subunidad α de una proteína G que redujera su afinidad por el GDP sin modificar demasiado su afinidad por el GTP? Compare los efectos de esta mutación con los efectos de la toxina del cólera.

Se observa una situación similar en el caso de la tos ferina (pertussis), una infección respiratoria común contra la que, en la actualidad, se vacuna sistemáticamente a los niños. En este caso, la bacteria causante de la enfermedad coloniza los pulmones, donde se produce una proteína llamada *toxina pertussis*. Esta proteína altera la subunidad α de un tipo distinto de proteína G (denominada G_i porque *inhibe* a la adenilatociclasa). Sin embargo, la toxina produce una modificación que desactiva a la proteína G al bloquearla en su estado inactivo unido al GDP. La desactivación de Gi, al igual que la activación de Gs, genera una señal



Figura 16-18. La subunidad α de la proteína G se desactiva hidrolizando el GTP unido a ella. Cuando una subunidad α activada se une a su proteína diana, la activa (o, en algunos casos, la desactiva; no mostrado) mientras las dos permanecen en contacto. En el término de segundos, la subunidad α hidroliza su GTP unido a GDP. Esta pérdida de GTP desactiva la subunidad α, que se disocia de su proteína diana y –si la subunidad α se había separado del complejo βγ (como se muestra)– ahora se reasocia con ese complejo y vuelve a formar una proteína G inactiva. En este momento, la proteína G está lista para acoplarse a otro receptor activado, como en la figura 16-17B. Tanto la subunidad α activada como el complejo βγ activado libre pueden interactuar con proteínas diana de la membrana plasmática. Véase también la película 16.2.

prolongada e inadecuada que, en este caso, estimula la tos. Tanto los efectos diarreicos de la toxina colérica como los efectos tusígenos de la toxina pertussis ayudan a que las bacterias causantes de la enfermedad se propaguen de hospedador a hospedador.

Algunas proteínas G regulan directamente canales iónicos

Las proteínas diana reconocidas por las subunidades de las proteínas G son enzimas o canales iónicos de la membrana plasmática. Hay alrededor de 20 tipos de proteínas G en los mamíferos, cada una activada por un grupo particular de receptores de la superficie celular que activan un conjunto particular de proteínas diana. De esta manera, la unión de una molécula de señalización extracelular a un GPCR inducen cambios de las actividades de un subgrupo específico de las posibles proteínas diana de la membrana plasmática, lo que determina una respuesta apropiada para esa señal y ese tipo de célula.

En primer lugar, se considerará un ejemplo de regulación directa de canales iónicos por proteínas G. En los animales, los latidos cardíacos son controlados por dos grupos de fibras nerviosas: un grupo acelera el ritmo cardíaco, y el otro lo enlentece. Los nervios que emiten la señal de disminución del ritmo cardíaco lo hacen por liberación de acetilcolina, que se une a un GPCR de la superficie de las células del músculo cardíaco. Este GPCR activa la proteína G (G_i). En este caso, el complejo βγ es el componente de señalización activo: se une a la cara intracelular de un canal de K^+ de la membrana plasmática de la célula de músculo cardíaco y fuerza al canal iónico a mantener una conformación abierta (Fig. 16-19A). La señal es interrumpida –y el canal de K^+ se cierra de nuevo– cuando la subunidad α se desactiva al hidrolizar al GTP unido a ella, lo que vuelve a la proteína G a su estado inactivo (Fig. 16-19C).

Algunas proteínas G activan enzimas unidas a la membrana

Cuando las proteínas G interactúan con canales iónicos, provocan un cambio inmediato en el estado y el comportamiento de la célula. Sus interacciones con enzimas diana tienen consecuencias más complejas que inducen la producción de

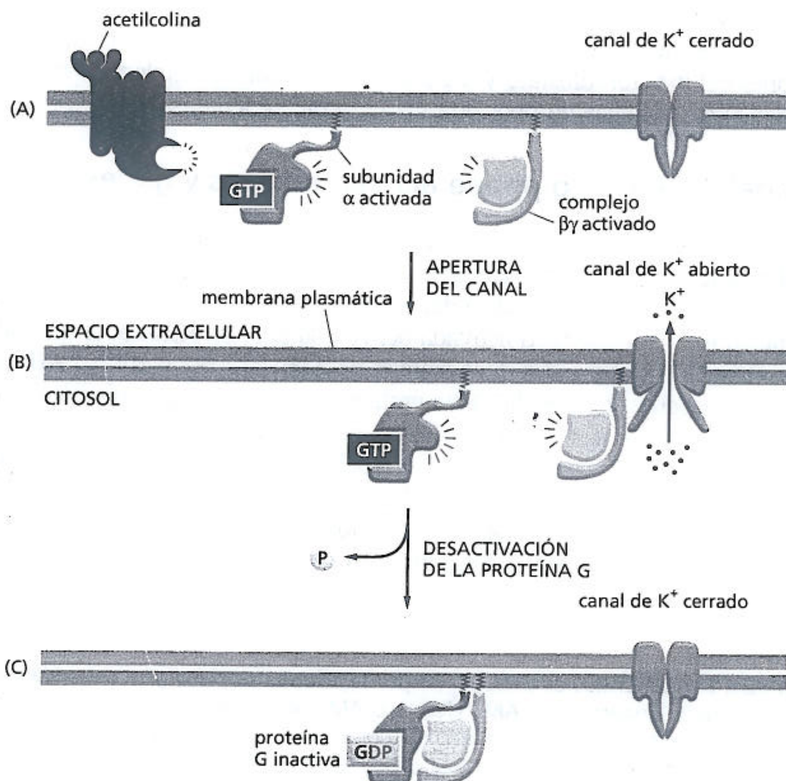
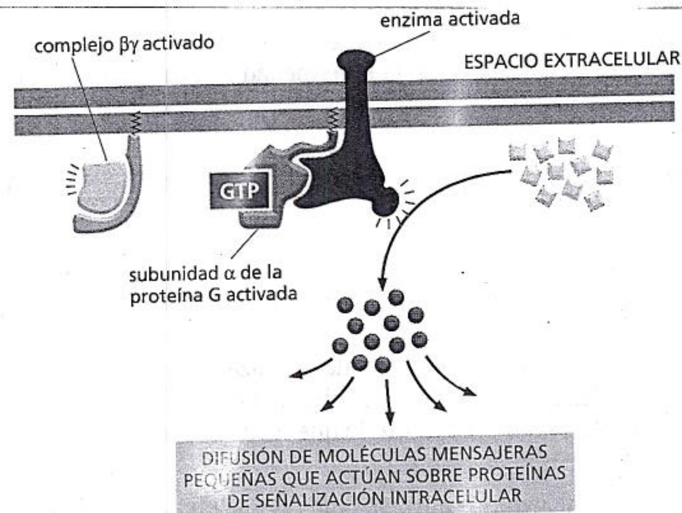


Figura 16-19. Una proteína Gi acopla directamente la activación del receptor con la apertura de los canales de K+ de la membrana plasmática de las células del miocardio. (A) La unión del neurotransmisor acetilcolina a su GPCR en las células miocárdicas determina la activación de la proteína G, G_i. (B) El complejo βγ activado abre directamente un canal de K^+ de la membrana plasmática de la célula cardíaca, lo que permite que el K^+ abandone la célula con la consiguiente disminución de su excitabilidad. (C) La desactivación de la subunidad α por hidrólisis del GTP unido a ella regresa a la proteína G a su estado inactivo, lo que permite el cierre del canal de K^+.

Figura 16-20. Las enzimas activadas por proteínas G catalizan la síntesis de moléculas de señalización intracelular pequeñas. Como cada enzima activada genera muchas moléculas de estos segundos mensajeros, la señal se amplifica mucho en este paso de la vía. Los segundos mensajeros, que se unen a proteínas de señalización específicas de la célula e influyen en su actividad, transmiten la señal.



otras moléculas de señalización intracelular. Las dos enzimas diana más frecuentes de las proteínas G son la *adenilatociclasa*, la enzima responsable de la producción de la pequeña molécula de señalización intracelular AMP cíclico, y la *fosfolipasa C*, la enzima responsable de la producción de *inositol trifosfato* y *diacilglicerol*. Estas dos enzimas son activadas por distintos tipos de proteínas G, de modo que las células pueden acoplar la producción de las pequeñas moléculas de señalización intracelular con distintas señales extracelulares. Como se mencionó antes, el acoplamiento puede ser estimulador o inhibidor. Aquí, se considerarán las proteínas G que estimulan la actividad enzimática. Las pequeñas moléculas de señalización intracelular generadas en estas cascadas se suelen denominar **pequeños mensajeros, segundos mensajeros** o **mensajeros secundarios** (los "mensajeros primarios" son las señales extracelulares); los segundos mensajeros se producen en grandes cantidades cuando se activa una enzima unida a la membrana –como la adenilatociclasa o la fosfolipasa C– y difunden con rapidez lejos de su fuente y propagan la señal (Fig. 16-20).

Por supuestos, diferentes moléculas mensajeras pequeñas provocan distintas respuestas. Se examinarán primero las consecuencias de un aumento de la concentración intracelular de AMP cíclico. Esto nos llevará a uno de los principales tipos de vías de señalización que parten de la activación de GPCR. Luego, se analizarán las acciones del inositol trifosfato y del diacilglicerol, que son moléculas mensajeras pequeñas que nos llevarán por otra vía de señalización.

La vía del AMP cíclico puede activar enzimas y genes

Muchas señales extracelulares que actúan a través de GPCR inciden en la actividad de la **adenilatociclasa** y, como consecuencia, modifican la concentración de la molécula mensajera pequeña **AMP cíclico** dentro de la célula. Lo más frecuente es que la subunidad α de la proteína G activada active a la adenilatociclasa, lo que causa un aumento súbito y sustancial de la síntesis de AMP cíclico a partir del ATP (que siempre está presente en la célula). Esta proteína G se denomina G_s porque estimula a la ciclasa. La señal se interrumpe cuando una segunda enzima, llamada *fosfodiesterasa del AMP cíclico*, convierte con rapidez el AMP cíclico en AMP común (Fig. 16-21). Una de las acciones estimulantes de la cafeína consiste en inhibir a esta fosfodiesterasa en el sistema nervioso bloqueando la degradación del AMP cíclico y manteniendo elevada la concentración de este mensajero secundario.

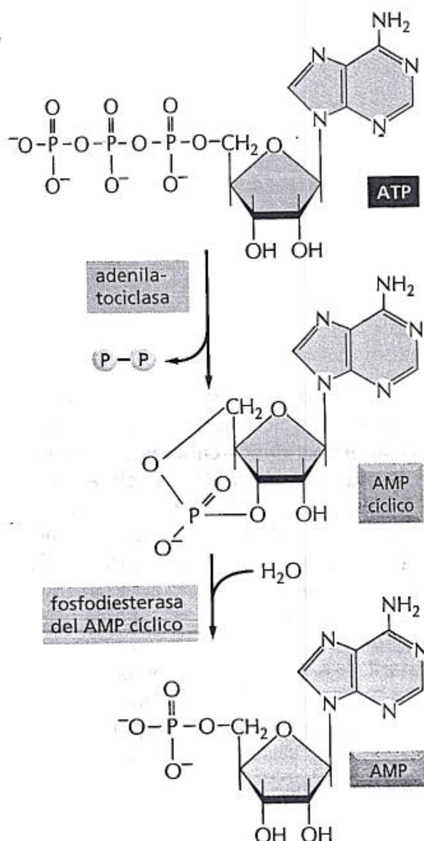


Figura 16-21. El AMP cíclico es sintetizado por la adenilatociclasa y se degrada por acción de la fosfodiesterasa del AMP cíclico. El AMP cíclico (denominado también cAMP) se forma a partir de ATP mediante una reacción que elimina dos grupos fosfato del ATP y une el extremo "libre" del fosfato restante al azúcar de la molécula de ATP. La reacción de degradación rompe este segundo enlace y forma AMP.

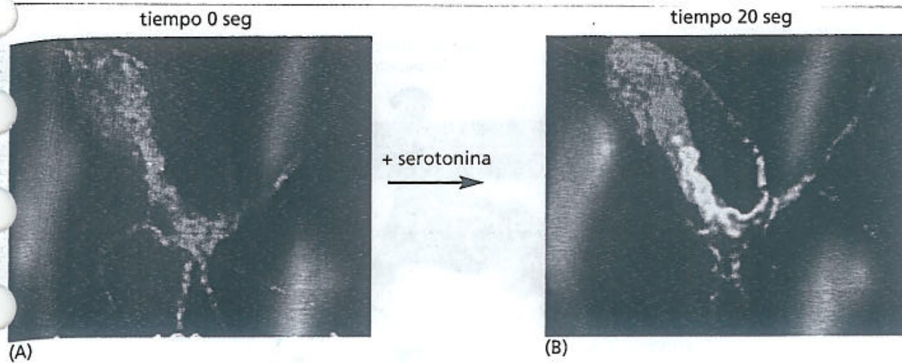


Figura 16-22. La concentración de AMP cíclico aumenta rápidamente en respuesta a una señal extracelular. Una célula nerviosa en cultivo responde a la unión del neurotransmisor serotonina a un GPCR sintetizando AMP cíclico. Se controló la concentración intracelular de AMP cíclico inyectando en la célula una proteína fluorescente que cambia su fluorescencia cuando se une a AMP cíclico. El color *azul* indica un nivel bajo de AMP cíclico; el *amarillo*, un nivel intermedio; y *rojo*, un nivel alto. (A) En la célula en reposo, la concentración intracelular de AMP cíclico es de alrededor de 5×10^{-8} M. (B) Veinte segundos después de añadir serotonina al medio de cultivo, la concentración intracelular de AMP cíclico aumentó más de veinte veces (a > 10^{-6} M) en las partes de la célula donde se concentran los receptores de serotonina. (Cortesía de Roger Tsien).

La fosfodiesterasa del AMP cíclico está en continua actividad dentro de la célula. Dado que descompone el AMP cíclico con tanta rapidez, la concentración de este mensajero secundario puede variar con rapidez en respuesta a señales extracelulares, y aumentar o disminuir hasta diez veces en cuestión de segundos (Fig. 16-22). El AMP cíclico es una molécula hidrosoluble, de manera que puede, en algunos casos, transportar la señal por toda la célula y trasladarse desde el sitio de la membrana en el que es sintetizado e interactuar con proteínas localizadas en el citosol, el núcleo o en otros orgánulos.

El AMP cíclico ejerce la mayoría de sus efectos por activación de la enzima **proteincinasa dependiente del AMP cíclico (PKA)**. Por lo general, esta enzima se mantiene inactiva en un complejo con otra proteína. La unión del AMP cíclico induce un cambio conformacional que libera la cinasa activa. Después, la PKA activada cataliza la fosforilación de determinadas serinas o treoninas de ciertas proteínas intracelulares, lo que modifica su actividad. En distintos tipos celulares, hay diferentes grupos de proteínas por fosforilar, lo que explica, en gran medida, por qué los efectos del AMP cíclico varían según el tipo de célula diana.

Muchas tipos de respuestas celulares son mediadas por el AMP cíclico; el cuadro 16-3 enumera algunas. Como se muestra en este cuadro, distintas células diana responden de maneras muy diferentes a las señales extracelulares que modifican las concentraciones intracelulares de AMP cíclico. Por ejemplo, cuando estamos asustados o excitados, la glándula suprarrenal libera la hormona *adrenalina*, que circula por el torrente sanguíneo y se une a una clase de GPCR denominados receptores adrenérgicos, que están presentes en muchos tipos de células. Las consecuencias varían en los diferentes tipos celulares, pero todas las respuestas ayudan a que el cuerpo se prepare para una acción rápida. En el músculo esquelético, por ejemplo, la adrenalina desencadena un aumento de la concentración intracelular de AMP cíclico, con la consiguiente degradación del glucógeno, la forma polimérica de almacenamiento de glucosa. Lo hace mediante activación de la PKA, que induce tanto la activación de una enzima que promueve la degradación de glucógeno (Fig. 16-23) como por inhibición de una enzima que estimula su síntesis. Al estimular la degradación de glucógeno e inhibir su síntesis, el aumento de AMP cíclico maximiza la cantidad de glucosa disponible como combustible

CUADRO 16-3 ALGUNAS RESPUESTAS CELULARES MEDIADAS POR AMP CÍCLICO

MOLÉCULA DE SEÑALIZACIÓN EXTRACELULAR*	TEJIDO DIANA	RESPUESTA PRINCIPAL
Adrenalina	Corazón	Aumento de la frecuencia cardíaca y de la fuerza de contracción
Adrenalina	Músculo esquelético	Degradación del glucógeno
Adrenalina, ACTH, glucagón	Tejido adiposo	Degradación de las grasas
ACTH	Glándula suprarrenal	Secreción de cortisol

*Si bien todas las moléculas señalizadoras mencionadas aquí son hormonas, algunas respuestas a mediadores locales y a neurotransmisores también son mediadas por AMP cíclico.

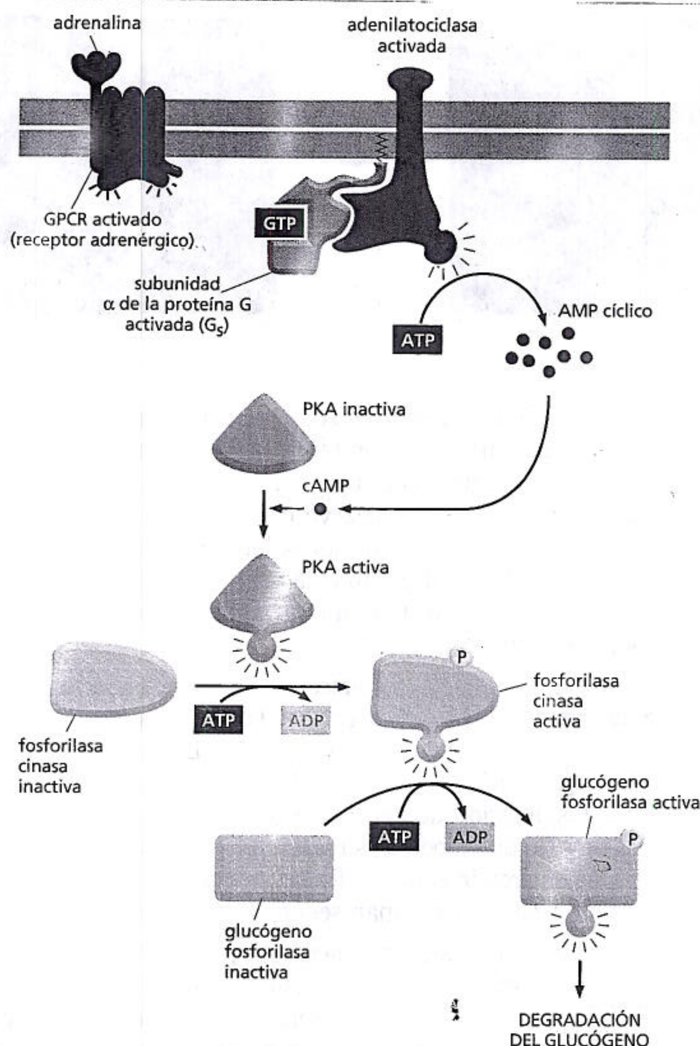


Figura 16-23. La adrenalina estimula la degradación de glucógeno en las células de músculo esquelético. La hormona activa un GPCR que activa una proteína G (G_S), que activa la adenilatociclasa, lo que refuerza la producción de AMP cíclico. A su vez, el AMP cíclico activa la PKA, que fosforila y activa una enzima denominada fosforilasa cinasa, la enzima que degrada el glucógeno. Como estas reacciones no implican cambios de la transcripción de genes ni síntesis de nuevas proteínas, se producen con rapidez.

PREGUNTA 16-6

Explique por qué el AMP cíclico debe ser degradado rápidamente en la célula para permitir una rápida señalización.

para la actividad muscular prevista. La adrenalina también actúa sobre las células adiposas y estimula la degradación de los triacilgliceroles (la forma de almacenamiento de las grasas) a ácidos grasos, una forma de combustible utilizable de inmediato para la producción de ATP (véase capítulo 13). Estos ácidos grasos también se pueden exportar de modo que son usados por otras células que requieren energía.

En algunos casos, los efectos de activar una cascada de AMP cíclico son rápidos; por ejemplo, en el músculo esquelético, la degradación del glucógeno se produce a los segundos de la unión de la adrenalina con su receptor (véase Fig. 16-23). En otros casos, las respuestas al AMP cíclico implican cambios de la expresión génica que demandan minutos u horas (véase Fig. 16-7). En estas respuestas lentas, la PKA suele fosforilar reguladores de la transcripción que, después, activan la transcripción de determinados genes. Así, en las células endocrinas del hipotálamo, un aumento de la concentración intracelular de AMP cíclico estimula la producción de somatostatina, una hormona peptídica que, después, inhibe la liberación de diversas hormonas por otras células. De modo similar, un aumento de la concentración de AMP cíclico en algunas neuronas cerebrales controla la producción de proteínas involucradas en algunas formas de aprendizaje. La **figura 16-24** ilustra una vía típica mediada por AMP cíclico de la membrana plasmática al núcleo.

Ahora se considerará la otra vía de señalización mediada por enzimas que parte de los GPCR: la vía que comienza con la activación de la *fosfolipasa C*, una enzima unida a la membrana, y que genera los segundos mensajeros *inositol trifosfato* y *diacilglicerol*.

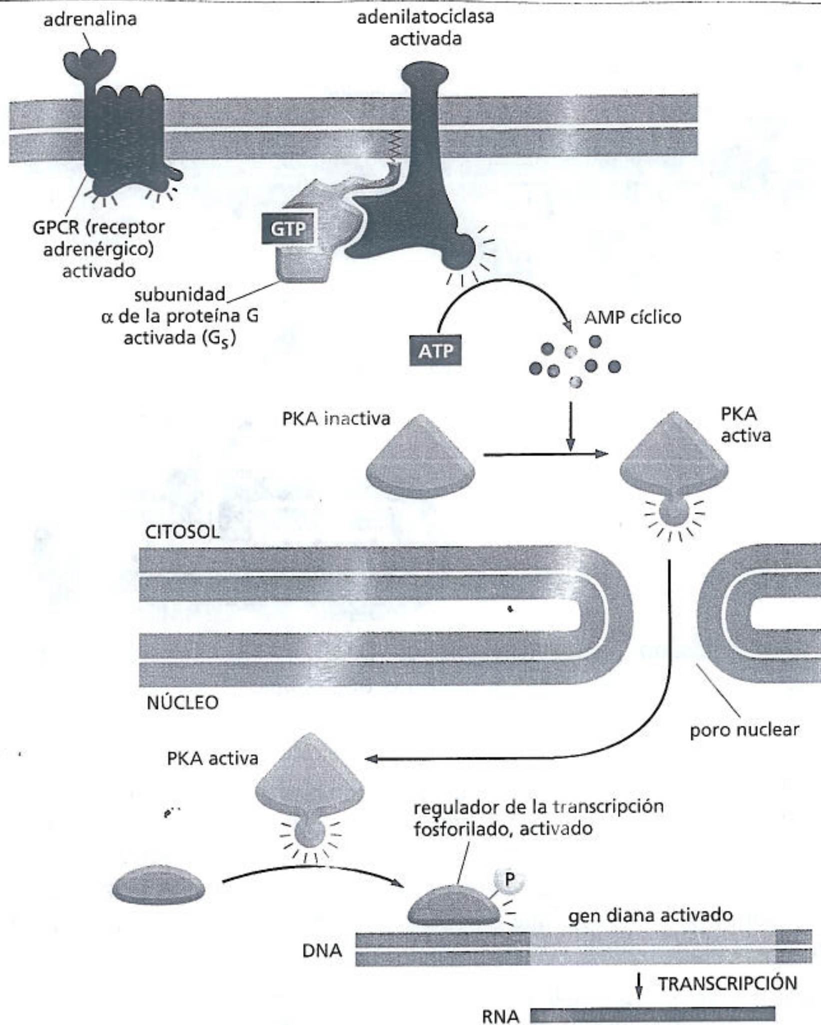


Figura 16-24. Un aumento del AMP cíclico intracelular puede activar la transcripción génica. La unión de una molécula señalizadora a su GPCR puede activar la adenilatociclasa y aumentar la concentración intracelular de AMP cíclico. En el citosol, el AMP cíclico activa la PKA, que se traslada al núcleo y fosforila determinados reguladores de la transcripción. Una vez fosforiladas, estas proteínas estimulan la transcripción de un grupo completo de genes diana (Película 16.3). Este tipo de vía de señalización controla muchos procesos celulares, desde la síntesis de hormonas por las células endocrinas hasta la producción de proteínas relacionadas con la memoria de largo plazo por el cerebro. La PKA activada también puede fosforilar y, por ende, regular otras proteínas y enzimas del citosol (como se muestra en la Fig. 16-23).

La vía del fosfolípido de inositol desencadena un aumento del Ca^{2+} intracelular

Algunos GPCR ejercen sus efectos a través de proteínas G que activan a la enzima unida a la membrana **fosfolipasa C** en lugar de activar la adenilatociclasa. En el cuadro 16-4, se presentan algunos ejemplos.

Una vez activada, la fosfolipasa C propaga su señal degradando una molécula lipídica que es un componente de la membrana plasmática. Esta molécula es un **fosfolípido de inositol** (un fosfolípido que tiene unido a su cabeza el azúcar inositol) que se encuentra en cantidades pequeñas en la mitad citosólica de la bicapa lipídica (véase Fig. 11-17). Dada la participación de este fosfolípido, la vía de señalización que comienza con la activación de la fosfolipasa C se conoce como la vía del *fosfolípido de inositol*. Ésta actúa en casi todas las células eucariontes y puede regular innumerables proteínas efectoras diferentes.

La vía funciona de la siguiente manera. La fosfolipasa C escinde la cabeza azúcar-fosfato del fosfolípido de inositol, genera dos moléculas señalizadoras pequeñas:

CUADRO 16-4 ALGUNAS RESPUESTAS CELULARES MEDIADAS POR LA ACTIVACIÓN DE LA FOSFOLIPASA C

MOLÉCULA SEÑALIZADORA	TEJIDO DIANA	RESPUESTA PRINCIPAL
Vasopresina (hormona peptídica)	Hígado	Degradación del glucógeno
Acetilcolina	Páncreas	Secreción de amilasa (enzima digestiva)
Acetilcolina	Músculo liso	Contracción
Trombina (enzima proteolítica)	Plaquetas	Agregación

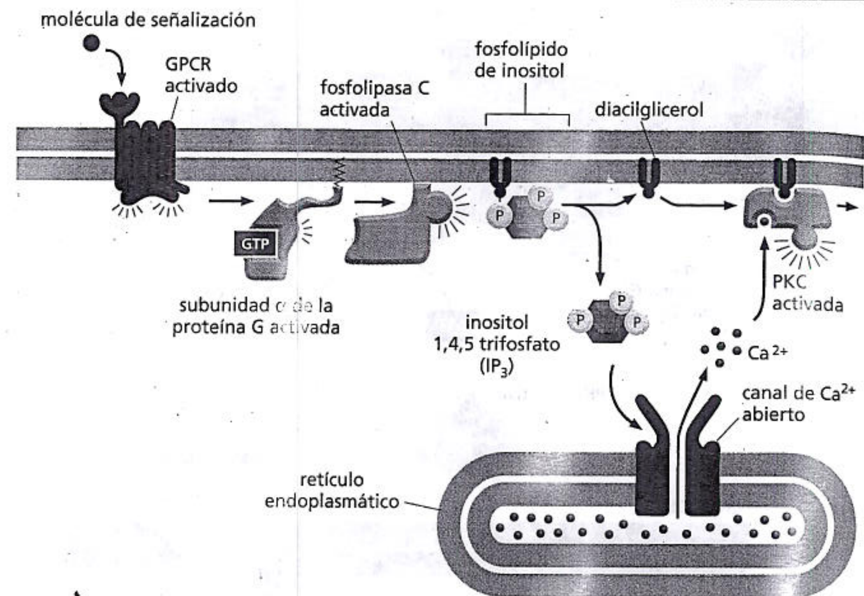


Figura 16-25. La fosfolipasa C activa dos vías de señalización. Cuando un fosfolípido de inositol de la membrana es hidrolizado por la fosfolipasa C activada se producen dos moléculas mensajeras pequeñas. El inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) difunde a través del citosol y desencadena la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplasmático al unirse a canales de Ca^{2+} especiales de su membrana del retículo y abrirlos. El gran gradiente electroquímico de Ca^{2+} a través de esta membrana hace que éste se precipite hacia el citosol. El diacilglicerol permanece en la membrana plasmática y, junto con el Ca^{2+}, ayuda a activar la enzima proteincinasa C (PKC), que es reclutada desde el citosol a la cara citosólica libre de la membrana plasmática. Después, la PKC fosforila su propio conjunto de proteínas intracelulares, lo que propaga aun más la señal.

inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) y **diacilglicerol** (DAG). El IP_3, un azúcar fosfato hidrosoluble, difunde hacia el citosol, mientras que el lípido DAG queda incluido en la membrana plasmática. Ambas moléculas desempeñan un papel crucial en la transmisión de la señal, que se considerará por separado.

EL IP_3 liberado hacia el citosol encuentran con rapidez el retículo endoplasmático, donde se une a los canales de Ca^{2+} incluidos en su membrana y los abre. El Ca^{2+} almacenado en el retículo endoplasmático se precipita hacia el citosol a través de estos canales abiertos (Fig. 16-25), lo que causa un aumento agudo de la concentración citosólica de Ca^{2+} libre, que en condiciones normales es muy baja. A su vez, este Ca^{2+} señala a otras proteínas, como se comenta más adelante.

El diacilglicerol, que es generado junto con el IP_3, ayuda a reclutar y activar una proteincinasa, que se transloca del citosol a la membrana plasmática. Esta enzima se denomina **proteincinasa C (PKC)** porque también se debe unir al Ca^{2+} para activarse (véase Fig. 16-25). Una vez activada, la PKC fosforila un grupo de proteínas intracelulares que varía de acuerdo con el tipo celular. La PKC funciona con el mismo principio que la PKA, aunque la mayor parte de las proteínas que fosforila son diferentes.

Una señal de Ca^{2+} desencadena muchos procesos biológicos

El papel del Ca^{2+} como segundo mensajero intracelular es tan importante y amplio que se debe hacer una digresión para considerar sus funciones en forma más general. Muchas clases de estímulos provocan un aumento de la concentración citosólica de Ca^{2+} libre, no sólo los que actúan a través de los GPCR. Cuando un espermatozoide fecunda a un óvulo u oocito, por ejemplo, los canales de Ca^{2+} se abren, y el aumento de la concentración citosólica de Ca^{2+} desencadena el comienzo del desarrollo embrionario (Fig. 16-26); en las células de músculo esquelético, una señal proveniente de un nervio produce un aumento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol que inicia la contracción muscular; por último, en muchas células secretoras, incluidas las células nerviosas, el Ca^{2+} desencadena la secreción. El Ca^{2+} estimula todas estas respuestas al unirse a proteínas sensibles a él e influir sobre su actividad.

La concentración de Ca^{2+} libre en el citosol de una célula no estimulada es extremadamente baja (10^{-7} M) respecto de su concentración en el fluido extracelular y en el retículo endoplasmático. Estas diferencias se mantienen gracias a la acción de las bombas incluidas en la membrana que expulsan activamente al Ca^{2+} del citosol: hacia el retículo endoplasmático o a través de la membrana plasmática hacia afuera de la célula. En consecuencia, hay un marcado gradiente electroquímico de Ca^{2+} a través de la membrana del retículo endosplasmático y a través de

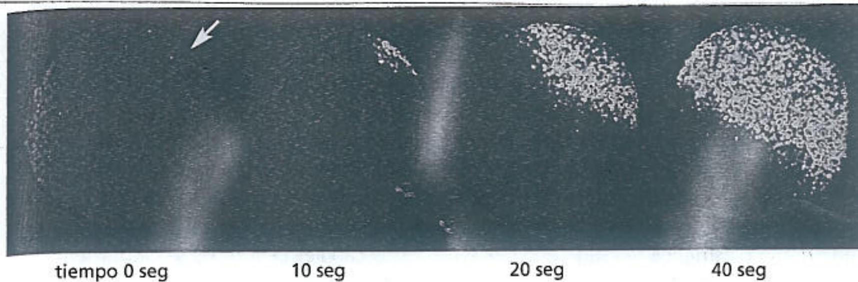


Figura 16-26. La fecundación de un óvulo por un espermatozoide provoca un aumento de Ca^{2+} citosólico en el óvulo. En este óvulo de estrella de mar, se inyectó colorante fluorescente sensible al Ca^{2+} antes de la fecundación. Cuando penetra un espermatozoide, se observa una ola de Ca^{2+} citosólico (*rojo*) –liberado del retículo endoplasmático– que recorre el óvulo desde el sitio de entrada del espermatozoide (*flecha*). Esta ola de Ca^{2+} provoca un cambio en la superficie del óvulo, que evita la entrada de otro espermatozoide, e inicia el desarrollo embrionario. Véase esta ola de Ca^{2+} en la película 16.4. (Cortesía de Stephen A. Stricker).

la membrana plasmática (véase Cap. 12). Cuando una señal abre en forma transitoria los canales de Ca^{2+} de alguna de estas membranas, el Ca^{2+} se precipita hacia el citosol a favor del gradiente electroquímico, lo que desencadena cambios en las proteínas del citosol que responden al Ca^{2+}. Las mismas bombas que, normalmente, funcionan manteniendo bajas concentraciones citosólicas de Ca^{2+} también ayudan a interrumpir la señal de Ca^{2+}.

Los efectos del Ca^{2+} en el citosol son, en gran medida, indirectos, porque son mediados por su interacción con diversas clases de *proteínas que responden al Ca^{2+}*. La más común y difundida es la **calmodulina**, presente en el citosol de todas las células eucariontes que han sido examinadas, como las células de plantas, los hongos y los protozoos. Cuando el Ca^{2+} se une a la calmodulina, la proteína sufre un cambio de conformación que le permite envolver un amplio rango de proteínas diana de la célula y modificar su actividad (Fig. 16-27). Las **proteincinasas dependientes del Ca^{2+} y calmodulina (cinasas CaM)** son una clase particularmente importante de dianas de la calmodulina. Cuando estas cinasas se activan por unirse al complejo calmodulina-Ca^{2+}, fosforilan determinadas proteínas y así influyen sobre otros procesos celulares. En el cerebro de los mamíferos, por ejemplo, abunda una cinasa CaM específica de las neuronas en las sinapsis, donde se cree que desempeña un papel en algunas formas de aprendizaje y en la memoria. Esta cinasa CaM es activada por los pulsos de las señales de Ca^{2+} que se producen durante la actividad nerviosa, y los ratones mutantes que carecen de esta cinasa son incapaces de recordar la ubicación de los objetos.

PREGUNTA 16-7

¿Por qué supone que las células han desarrollado depósitos intracelulares de Ca^{2+} en la señalización pese a la abundancia de Ca^{2+} extracelular?

Las cascadas de señalización intracelular pueden alcanzar una velocidad, una sensibilidad y una adaptabilidad sorprendentes

La descripción de los pasos de las *cascadas de señalización* asociadas con GPCR lleva mucho tiempo, pero su ejecución se produce en cuestión de segundos.

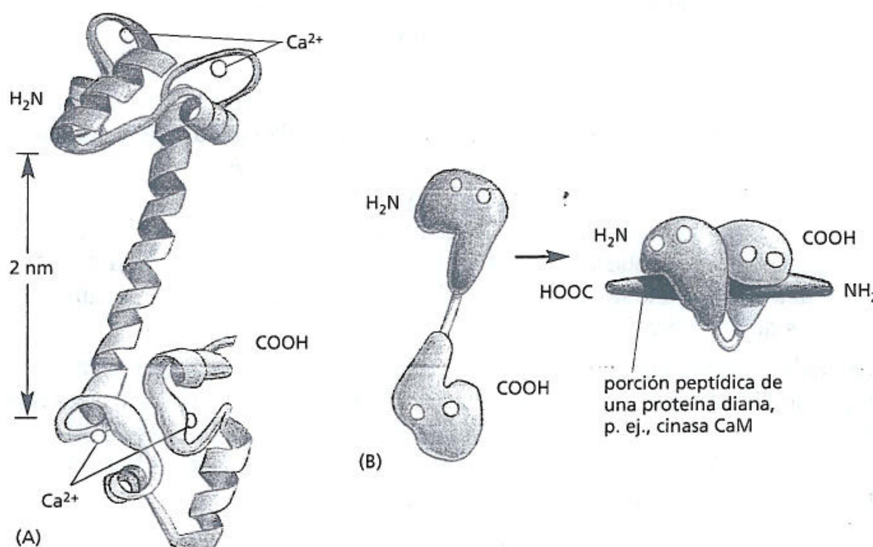


Figura 16-27. La unión de calcio modifica la forma de la proteína calmodulina. (A) La molécula de calmodulina tiene forma de mancuerna, con dos extremos globulares conectados entre sí por una hélice α flexible, larga. Cada extremo presenta dos dominios de unión al Ca^{2+}. (B) Representación simplificada de la estructura, que muestra los cambios de conformación de la Ca^{2+}/calmodulina cuando se une a una proteína diana. En esta conformación, la hélice α se ha doblado sobre sí misma rodeando a la proteína diana (Película 16.5). (A, de S. Babu et al., *Nature* 315:37-40, 1985. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd; B, de W. E. Meador, A. R. Means y F. A. Quiocho, *Science* 257:1251-1255, 1992, y M. Ikura et al., *Science* 256:632- 638, 1992. Con autorización de la AAAS).

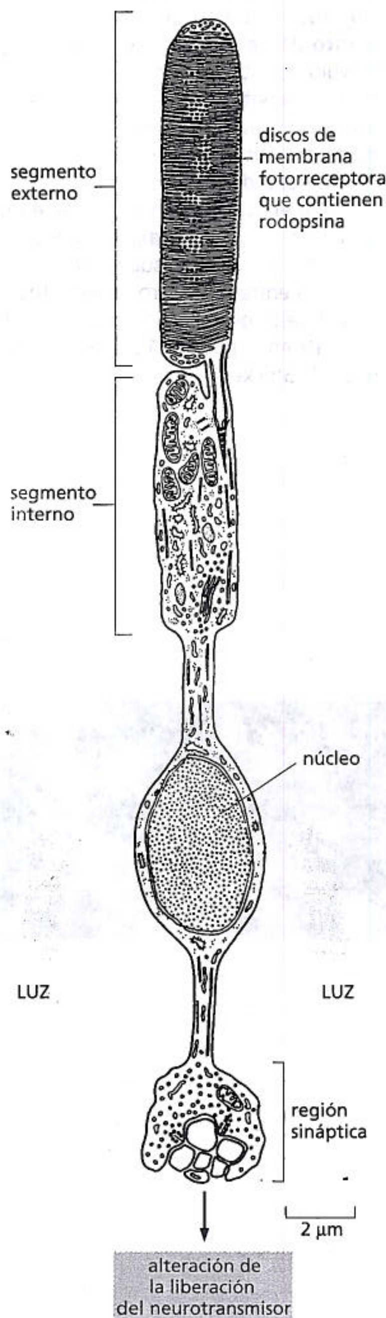


Figura 16-28. La célula fotorreceptora bastón de la retina es exquisitamente sensible a la luz. Dibujo de un fotorreceptor bastón. Las moléculas de rodopsina que absorben la luz están incluidas en numerosas vesículas en forma de disco de la membrana dentro del segmento externo de la célula. Se libera un neurotransmisor desde el extremo opuesto de la célula lo que controla la descarga de las células nerviosas de la retina que se conectan con el cerebro. Cuando la luz estimula el bastón, las moléculas de rodopsina de los discos transmiten una señal, a través del citosol del segmento externo, a canales que permiten que los iones positivos fluyan a través de la membrana plasmática del segmento externo. Estos canales catiónicos se cierran en respuesta a la señal, lo que provoca un cambio del potencial de membrana de la célula bastón. Mediante mecanismos similares a los que controlan la liberación de neurotransmisores en las neuronas comunes, el cambio del potencial de membrana altera la velocidad de liberación del neurotransmisor de la región sináptica de la célula. (Adaptada de T. L. Lentz, *Cell Fine Structure* Philadelphia: Saunders, 1971. Con autorización de Elsevier).

Considere la rapidez con la que una emoción puede acelerar los latidos del corazón (cuando la adrenalina estimula los GPCR de las células de músculo cardíaco, lo que acelera la frecuencia cardíaca) o la rapidez con la que el olor a comida provoca la salivación (a través de los GPCR olfativos de la nariz y los GPCR colinérgicos de las células salivares, que estimulan la secreción). De todos modos, una de las respuestas más rápidas mediadas por un GPCR es la respuesta del ojo a la luz brillante: las células fotorreceptoras de la retina de respuesta más rápida (los conos, que son responsables de la visión del color con luz brillante) producen una respuesta eléctrica a un destello repentino de luz en tan sólo 20 milisegundos.

Esta velocidad se alcanza pese a la necesidad de transmitir la señal por varios pasos de una cascada de señalización intracelular. Sin embargo, los fotorreceptores también ilustran las ventajas de las cascadas de señalización: en particular, estas cascadas permiten una amplificación espectacular de la señal recibida y posibilitan que las células se adapten y sean capaces de detectar señales de intensidades muy variables. Se han estudiado los detalles cuantitativos de manera más exhaustiva en los bastones fotorreceptores del ojo, que son responsables de la visión sin color con luz débil (Fig. 16-28). En esta célula, la luz es percibida por la *rodopsina*, un receptor de luz acoplado a una proteína G. La rodopsina activada por la luz activa, a su vez, a una proteína G llamada *transducina*. Después, la subunidad α activada de la transducina activa una cascada de señalización intracelular que provoca el cierre de los canales de cationes de la membrana plasmática de la célula fotorreceptora. Esto causa un cambio de voltaje a través de la membrana celular, que modifica la liberación de neurotransmisores y, finalmente, determina el envío de un impulso nervioso al cerebro.

La señal se amplifica en forma repetida mientras es transmitida por esta vía de señalización intracelular (Fig. 16-29). Cuando la iluminación es débil, como en una noche sin luna, la amplificación es enorme: apenas una docena de fotones absorbidos en toda la retina causarán una señal perceptible que se transmite al cerebro. A plena luz del sol, cuando los fotones inundan cada célula fotorreceptora a una velocidad de miles de millones por segundo, la cascada de señalización *se adapta*, y la amplificación disminuye más de 10.000 veces, de modo que las células fotorreceptoras no se sobrecarguen y pueden registrar, aun así, aumentos o disminuciones de la luz intensa. La adaptación depende de una retroalimentación negativa: una respuesta intensa en la célula fotorreceptora genera una señal intracelular (un cambio de la concentración de Ca^{2+}) que inhibe las enzimas responsables de amplificar la señal.

Suele haber **adaptación** en las vías de señalización que responden a señales químicas; también en este caso, permite que la célula siga siendo sensible a los cambios de intensidad de la señal en un amplio rango de niveles basales de estimulación. En otras palabras, la adaptación permite que la célula responda a mensajes que son susurrados y a los que son gritados.

El gusto y el olfato también dependen de GPCR. Es probable que este mecanismo de recepción de señales, surgido en los comienzos de la evolución de los eucarion-

les, se haya originado en la necesidad básica y universal de las células de percibir su medio y responder a él. Por supuesto, los GPCR no son los únicos receptores que activan cascadas de señalización intracelular. A continuación, se considera otra clase de receptores de la superficie celular –los receptores acoplados a enzimas– que desempeñan un papel clave en el control del número de células, la diferenciación celular y del movimiento celular en los animales pluricelulares.

RECEPTORES ACOPLADOS A ENZIMAS

Al igual que los GPCR, los **receptores acoplados a enzimas** son proteínas transmembrana que presentan sus dominios de unión al ligando en la superficie externa de la membrana plasmática. Sin embargo, en lugar de asociarse con una proteína G, el dominio citoplasmático del receptor actúa por sí mismo como una enzima o forma un complejo con otra proteína que actúa como una enzima. Los receptores asociados con enzimas (véase Fig. 16-15C) se descubrieron por su participación en las respuestas a las proteínas de señalización extracelular ('factores de crecimiento') que regulan el crecimiento, la proliferación, la diferenciación y la supervivencia de las células en los tejidos animales (véanse algunos ejemplos en el cuadro 16-1, p. 535). La mayoría de estas proteínas señalizadoras funcionan como mediadores locales y pueden actuar en concentraciones muy bajas (alrededor de 10^{-9} a 10^{-11} M). Las respuestas a ellas suelen ser lentas (del orden de horas) y requieren muchos pasos de transducción intracelular que, finalmente, inducen cambios de la expresión génica.

Sin embargo, los receptores acoplados a enzimas también pueden mediar reconfiguraciones rápidas y directas del citoesqueleto, lo que controla el modo en que la célula cambia de forma y se mueve. Con frecuencia, las señales extracelulares para estas modificaciones de la arquitectura no son proteínas señalizadoras con capacidad de difusión, sino proteínas unidas a las superficies sobre las que avanza la célula. Las alteraciones del crecimiento, la proliferación, la diferenciación, la supervivencia y la migración celular son fundamentales en el cáncer, y las anormalidades de la señalización a través de receptores acoplados a enzimas desempeñan un papel importante en la aparición de este tipo de enfermedades.

La clase más grande de receptores acoplados a enzimas está compuesto por aquellos cuyo dominio citoplasmático funciona como una proteincinasa de tirosina, que fosforila las cadenas laterales de tirosina de determinadas proteínas intracelulares. Estos receptores se denominan **receptores tirosincinasa (RTK)** y serán considerados a continuación. Obsérvese que todas las demás proteincinasas analizadas hasta ahora –como PKA, PKC y cinasas CaM– son serina/treonina cinasas.

Los RTK activados reclutan un complejo de proteínas de señalización intracelular

Para funcionar como transductor de señales, un receptor acoplado a enzimas debe poner en funcionamiento la actividad enzimática de su dominio intracelular (o de una enzima asociada) cuando una molécula de señalización externa se une a su dominio extracelular. A diferencia de los GPCR de siete segmentos, un receptor acopado a enzimas suele tener sólo un segmento transmembrana, que se considera que abarca la bicapa lipídica como una hélice α simple. Como una hélice α simple no es adecuada para transmitir un cambio de conformación a través de la bicapa, los receptores acoplados a enzimas tienen una estrategia distinta en la transducción de la señal extracelular. En muchos casos, la unión de la molécula señalizadora determina que dos moléculas receptoras se aproximen entre sí en la membrana y formen un dímero. El contacto entre las colas intracelulares de los dos receptores adyacentes activa su función de cinasa y cada receptor fosforila al otro. En el caso de los RTK, la fosforilación se produce en tirosinas específicas localizadas en la cola citosólica de los receptores.

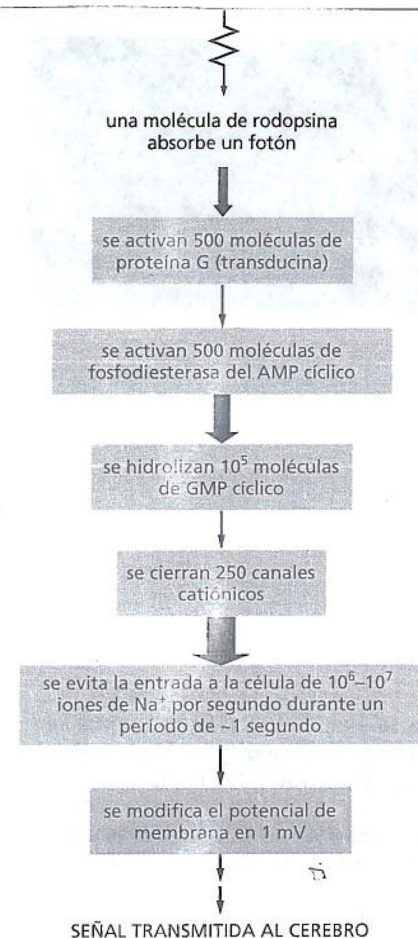


Figura 16-29. La cascada de señalización inducida por la luz en los fotorreceptores de tipo bastón amplifica mucho la señal lumínica. Cuando los bastones fotorreceptores están adaptados a la luz tenue, la amplificación de la señal es enorme. La vía de señalización intracelular de la proteína G transducina utiliza componentes distintos de los descritos antes. La cascada funciona de la siguiente manera. En ausencia de señal lumínica, la guanilatociclasa produce la molécula mensajera pequeña GMP cíclico en forma continua (véase Fig. 16-11C) en la célula fotorreceptora. Después, el GMP cíclico se une a los canales catiónicos de la membrana plasmática de la célula fotorreceptora y los mantiene abiertos. La rodopsina activada por la luz provoca la activación de las subunidades α de la transducina. Ésta activa una enzima denominada fosfodiesterasa del GMP cíclico, que lo degrada a GMP (de modo muy similar a la degradación del AMP cíclico por la fosfodiesterasa; véase Fig. 16-21). La disminución brusca de la concentración intracelular de GMP cíclico causa la disociación del GMP cíclico unido a los canales catiónicos que, por lo tanto, se cierran. Las flechas *rojas* indican los pasos en los que tiene lugar la amplificación, cuya magnitud aproximada está indicada por el espesor de la flecha.

PREGUNTA 16-8

Una característica importante de cualquier vía de señalización intracelular es su capacidad de ser desactivada. Considere la vía mostrada en la figura 16-29. ¿Dónde se requerirían interruptores de desactivación? ¿Cuáles supone que serían los más importantes?

Después, la fosforilación de las tirosinas desencadena el ensamblaje de un elaborado complejo de señalización intracelular en las colas de los receptores. Las tirosinas recién fosforiladas actúan como sitios de unión para toda una variedad de proteínas de señalización intracelular: quizá, hasta 10 o 20 moléculas diferentes (Fig. 16-30). Algunas de estas proteínas son fosforiladas y activadas al unirse al receptor y, después propagan la señal; otras funcionan sólo como *adaptadores*, que acoplan el receptor a otras proteínas de señalización, lo que ayuda a construir el complejo de señalización activo. Todas estas proteínas de señalización intracelular tienen un dominio de interacción especializado capaz de reconocer tirosinas fosforiladas específicas. Dominios proteicos similares permiten que las proteínas de señalización intracelular reconozcan los lípidos fosforilados que se producen en una membrana en respuesta a ciertas señales, como se analizará más adelante.

Mientras persisten, los complejos proteicos ensamblados en las colas citosólicas de los RTK pueden transmitir la señal a lo largo de varias vías en forma simultánea a muchos destinos dentro de la célula, lo que activa y coordina los numerosos cambios bioquímicos necesarios para desencadenar una respuesta compleja, como la proliferación celular. Para ayudar a terminar con la respuesta, las fosforilaciones de tirosinas son revertidas por *tirosinfosfatasas*, que eliminan los fosfatos que se habían agregado a las tirosinas de los RTK y otras proteínas de señalización en respuesta a la señal extracelular. En algunos casos, los RTK (y los GPCR) activados se desactivan de una manera más drástica: son arrastrados hacia el interior de la célula por endocitosis y, luego, son destruidos por digestión en los lisosomas.

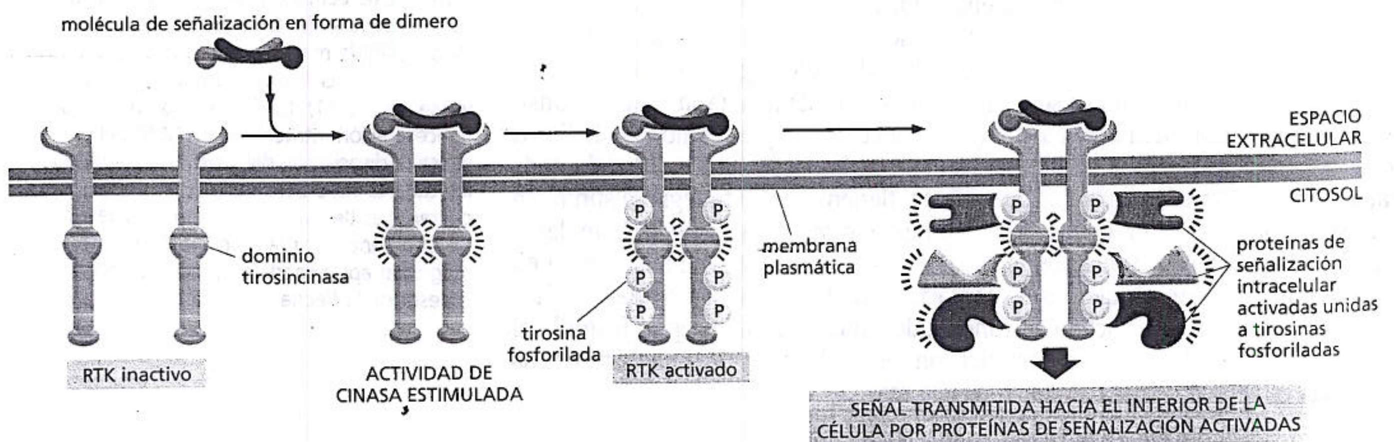
Diferentes RTK reclutan distintos grupos de proteínas de señalización intracelular y provocan distintos efectos; sin embargo, hay cierto tipo de componentes que parecen ser utilizados por la mayoría de los RTK. Por ejemplo, una fosfolipasa que funciona del mismo modo que la fosfolipasa C activa la vía de señalización del fosfolípido de inositol analizada antes (véase Fig. 16-25). Otra proteína de señalización intracelular activada por casi todos los RTK es una pequeña proteína de unión a GTP denominada Ras.

La mayoría de los RTK activa la GTPasa monomérica Ras

Como ya se ha visto, los RTK activados reclutan muchos tipos de proteínas de señalización intracelular. Uno de los integrantes clave de estos complejos de señalización es **Ras**, una pequeña proteína de unión a GTP unida por medio de una cola lipídica a la cara citoplasmática de la membrana plasmática. Casi todos los RTK activan a Ras, incluidos los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), que median la proliferación celular en la cicatrización de las heridas, y los receptores del factor de crecimiento nervioso (NGF), que evitan la muerte de ciertas neuronas durante el desarrollo del sistema nervioso.

La proteína Ras es un miembro de una gran familia de proteínas de unión a GTP pequeñas, denominadas a menudo **GTPasas monoméricas** para distinguirlas de las proteínas G triméricas mencionadas. Ras se asemeja a la subunidad α de una pro-

Figura 16-30. La activación de un RTK estimula el ensamblaje de un complejo de señalización intracelular. Por lo general, la unión de una molécula señalizadora al dominio extracelular de un RTK causa la asociación de dos moléculas receptoras en un dímero. La molécula señalizadora aquí mostrada es, en sí misma, un dímero y, por ende, puede formar enlaces cruzados con dos moléculas receptoras. En otros casos, la unión de la molécula señalizadora cambia la conformación de las moléculas receptoras de manera tal que las convierte en dímeros. La formación de dímeros determina que los dominios cinasa de la cola intracelular de cada receptor se contacten entre sí; esto activa las cinasas y les permite fosforilar varias tirosinas de la cola adyacente. Cada tirosina fosforilada actúa como sitio de unión específico para una proteína de señalización intracelular distinta, que luego ayuda a transmitir la señal al interior de la célula; estas proteínas tienen un dominio de interacción especializado –en este caso, un módulo llamado dominio SH_2– que reconoce tirosinas fosforiladas específicas de un receptor activado o de otra molécula de señalización intracelular y se une a ellas.



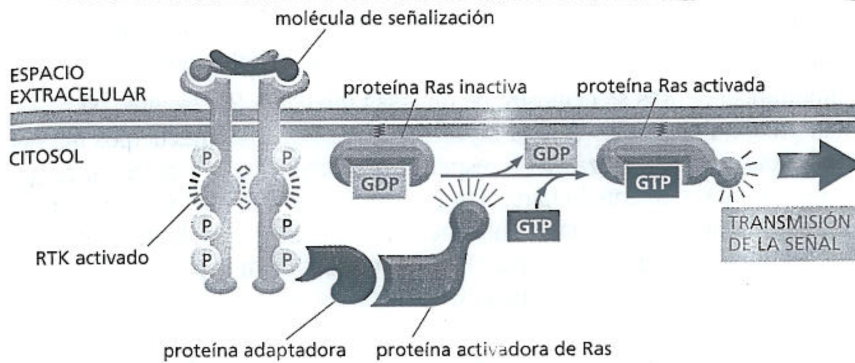


Figura 16-31. Los RTK activan a Ras. Una proteína adaptadora se acopla a una fosfotirosina particular del receptor activado (para simplificar el esquema, se omitieron las otras proteínas señalizadoras que se muestran unidas al receptor en la Fig. 16-30). El adaptador recluta a una proteína activadora de Ras que estimula a ras a intercambiar GDP por GTP. Ahora, la proteína Ras activada puede estimular varias vías de señalización corriente abajo, una de las cuales se muestra en la figura 16-32. Obsérvese que la proteína Ras contiene un grupo lipídico unido por enlace covalente (*negro*) que ayuda a anclar la proteína a la membrana plasmática.

teína G y actúa como un interruptor molecular de una manera muy similar. Fluctúa entre dos estados conformacionales: es activa cuando está unida al GTP e inactiva cuando está unida al GDP (véase Fig. 16-14B). La interacción con una proteína señalizadora activadora estimula a Ras a que intercambie su GDP por GTP y la activa (Fig. 16-31). Después de un lapso, Ras se desactiva a sí misma nuevamente hidrolizando el GTP unido a GDP (Película 16.6).

En su estado activo, Ras promueve la activación de una cascada de fosforilación en la que una serie de serina/treonina cinasas se fosforilan y se activan entre sí consecutivamente, como en un juego de dominó intracelular (Fig. 16-32). Este sistema de transmisión, que transporta la señal de la membrana plasmática al núcleo, incluye un módulo de tres cinasas denominado **cascada de señalización de MAP-cinasa**, en honor a la cinasa final de la cadena, la proteincinasa activada por mitógeno o **MAP-cinasa** (los *mitógenos* son moléculas de señalización extracelular que estimulan la proliferación celular). En esta vía, la MAP-cinasa es fosforilada y activada por una enzima denominada, con toda lógica, *MAP-cinasa cinasa*. Y esta proteína es activada por una *MAP-cinasa cinasa cinasa* (que es activada por Ras). Al final de la cascada de MAP-cinasa, esta enzima fosforila diversas proteínas efectoras, incluidos ciertos reguladores de la transcripción, lo que modifica su capacidad para controlar la transcripción de genes. Este cambio del patrón de expresión génica puede estimular la proliferación celular, promover la supervivencia de la célula o inducir su diferenciación: el resultado preciso dependerá de qué otros genes estén activos en la célula y de qué otras señales

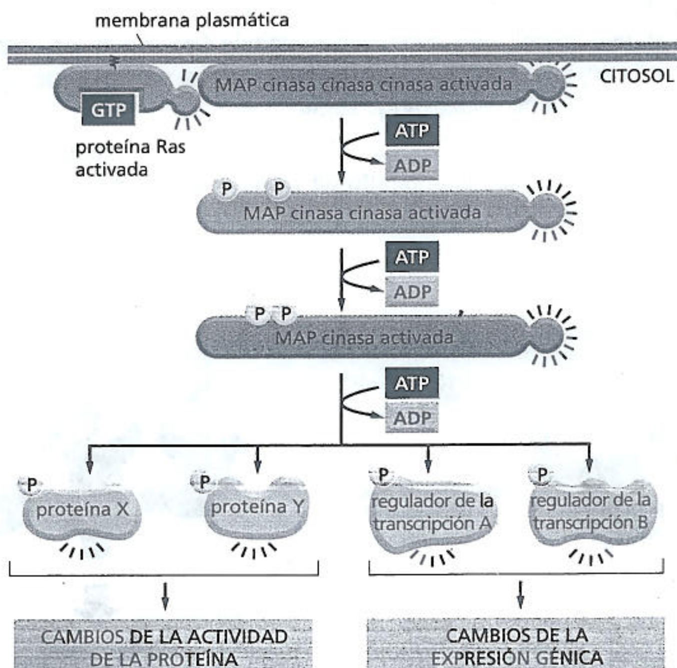


Figura 16-32. Ras activa un módulo de señalización de MAP-cinasa. Una proteína Ras activada por el proceso ilustrado en la figura 16-31 activa un módulo de señalización de tres cinasas, que transmite la señal. La cinasa final de la cascada, MAP-cinasa, fosforila diversas proteínas de señalización o efectoras corriente abajo. Estas proteínas pueden incluir otras proteincinasas y, lo más importante, reguladores de la transcripción que controlan la expresión génica. Los cambios resultantes de la expresión génica y de la actividad de las proteínas inducen modificaciones complejas de los comportamientos celulares, como proliferación y diferenciación.

reciba . En la sección Biología experimental, pp. 560-561, se explica el modo en que los biólogos desentrañan estas complejas vías de señalización.

La importancia de Ras se demostró de diversas maneras. Por ejemplo, si se inhibe esta proteína por medio de una inyección intracelular de anticuerpos inactivadores de Ras, la célula quizá ya no responda a algunas de las señales intracelulares a las que normalmente lo haría. Por el contrario, si Ras está siempre activada en algunos tipos celulares, las células actúan como si fueran bombardeadas en forma continua por mitógenos extracelulares que estimulan la proliferación (véase Cap. 18). Antes de que se descubriera Ras en células normales, se halló una forma mutante de esta proteína en células cancerosas humanas; la mutación anulaba la actividad GTPasa de Ras, de manera que la proteína no podía desactivarse a sí misma lo que promovía la proliferación celular descontrolada y la aparición de cáncer. Alrededor del 30% de los cánceres humanos contienen este tipo de mutaciones activadoras en los genes *Ras*, y muchos de los cánceres que no producen proteínas Ras mutantes presentan mutaciones de genes cuyos productos pertenecen a la misma vía de señalización que Ras. En la búsqueda de *oncogenes* promotores del cáncer, se identificaron inicialmente muchos de los genes que codifican estas proteínas de señalización intracelular, esto se analiza en el capítulo 20.

PREGUNTA 16-9

¿Esperaría activar GPCR y RTK por exposición de las células a anticuerpos que se unieran a las proteínas respectivas? (indicio: repase la lámina 4-3, pp. 144-145, sobre las propiedades de las moléculas de anticuerpos).

Los RTK activan la PI-3 cinasa que produce sitios de acoplamiento lipídicos en la membrana plasmática

Muchas de las proteínas de señalización extracelular que estimulan a las células animales a sobrevivir, crecer y proliferar actúan a través de RTK; por ejemplo, proteínas señalizadoras que pertenece a la familia del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF). Una vía de señalización de importancia crucial que activan los RTK y promueven el crecimiento y la supervivencia celulares depende de la enzima **fosfoinositida 3-cinasa (PI-3-cinasa)**, que fosforila fosfolípidos de inositol de la membrana plasmática. Estos lípidos fosforilados se convierten en sitios de acoplamiento para determinadas proteínas de señalización intracelular, que pasan del citosol a la membrana plasmática, donde pueden activarse entre sí.

Una de las más importantes de estas proteínas relocalizadas es la serina/treonina cinasa *Akt*, que también se denomina *proteincinasa B* o *PKB* (Fig. 16-33). La Akt promueve el crecimiento y la supervivencia de muchos tipos celulares, a menudo por desactivación de las proteínas de señalización que fosforila. Por ejemplo, Akt fosforila y desactiva una proteína citosólica llamada *Bad*. En su estado activo, Bad estimula la autodestrucción de la célula al activar, indirectamente, un programa de suicidio celular denominado apoptosis (véase capítulo 18). Así, la fosforilación por Akt promueve la supervivencia celular al desactivar una proteína que, de lo contrario, promueve la muerte celular (Fig. 16-34).

Además de promover la supervivencia celular, la *vía de señalización de PI-3-cinasa-Akt* también estimula el aumento de tamaño de la célula. Hace esto por activación indirecta de una serina/treonina cinasa grande, denominada *Tor*. Tor

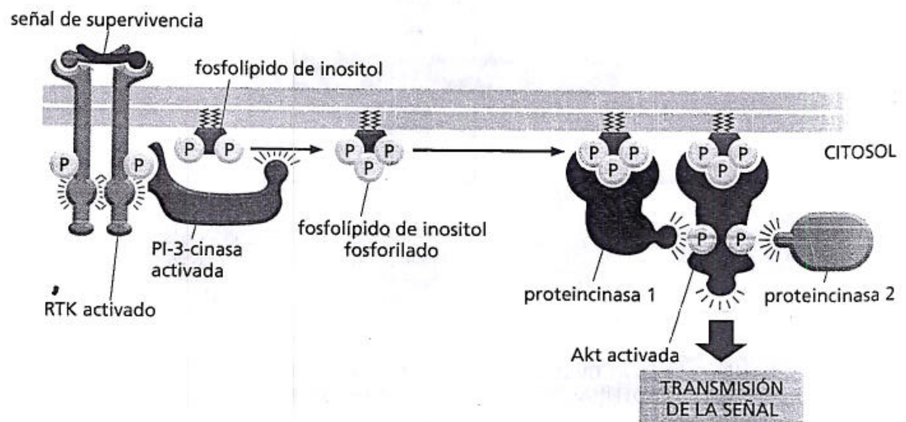


Figura 16-33. Los RTK pueden activar la vía de señalización de PI-3-cinasa-Akt. Una señal extracelular de supervivencia, como IGF, activa un RTK, que recluta y activa a PI-3-cinasa. Después, ésta fosforila un fosfolípido de inositol asociado a la membrana. El fosfolípido de inositol fosforilado resultante atrae proteínas de señalización intracelular que tienen un dominio especial que lo reconoce. Una de estas proteínas de señalización, Akt, es una proteincinasa que es activada en la membrana por fosforilación mediada por otras dos proteincinasas (denominadas aquí proteincinasas 1 y 2); la proteincinasa 1 también es reclutada por los sitios de acoplamiento lipídicos fosforilados. Una vez activada, la Akt es liberada de la membrana plasmática y fosforila serinas y treoninas específicas de diversas proteínas corriente abajo.

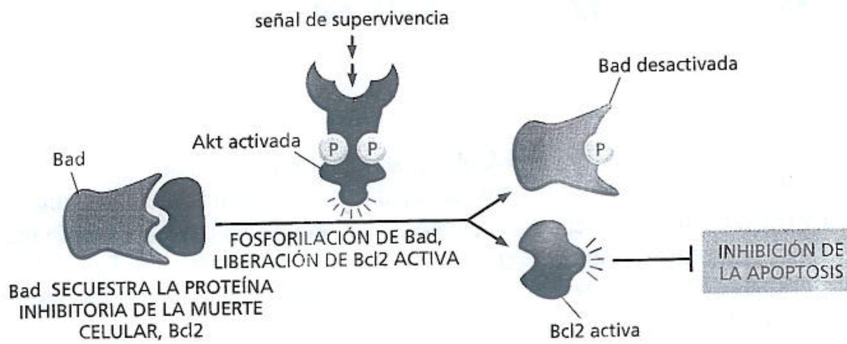


Figura 16-34. La Akt activada promueve la supervivencia celular. Una manera de hacerlo consiste en fosforilar y desactivar una proteína llamada Bad. En su forma no fosforilada, Bad promueve la apoptosis (una forma de muerte celular) al unirse e inhibir a una proteína, denominada Bc12, que normalmente suprime la apoptosis. Al ser fosforilada por Akt, Bad libera a Bc12, que ahora bloquea la apoptosis, lo que promueve la supervivencia de la célula.

estimula el crecimiento celular por aumento de la síntesis proteica y por inhibición de la degradación proteica (Fig. 16-35). El fármaco antineoplásico rapamicina actúa por desactivación de Tor, lo que refuerza la importancia de la vía de señalización de PI-3-cinasa-Akt en la regulación del crecimiento y la supervivencia de las células.

Algunos receptores asociados con enzimas activan una vía rápida hacia el núcleo

No todos los receptores acoplados a enzimas desencadenan cascadas de señalización complejas que requieren la cooperación de una secuencia de proteincinasas para llevar un mensaje al núcleo. Algunos receptores utilizan una vía más directa que controla la expresión génica.

Algunas hormonas y muchos mediadores locales llamados **citocinas** se unen a receptores que pueden activar proteínas reguladoras de la transcripción de genes que se mantienen en estado latente, inactivos, cerca de la membrana plasmática. Una vez activadas, estas proteínas reguladoras –denominadas STAT (*s*ignal *t*ransducer and *a*ctivators of *t*ranscription [transductoras de señales y activadoras de la transcripción])– se dirigen directamente al núcleo, donde estimulan la transcripción de genes específicos. Esta vía de señalización directa es la que utilizan, por ejemplo, los *interferones*, que son citocinas producidas por las células infectadas que instruyen a otras células en la producción de proteínas que las tornarán más resistentes a infecciones virales.

A diferencia de los RTK que estimulan cascadas de señalización elaboradas, los receptores de citocinas y hormonas que dependen de STAT no tienen actividad enzimática intrínseca. En cambio, se asocian con tirosincinasas citoplasmáticas llamadas *JAK*, que se activan cuando se une una citocina o una hormona al receptor. Una vez activadas, las JAK fosforilan y activan las STAT, que después migran al núcleo, donde estimulan la transcripción de genes diana específicos. Por ejemplo, la hormona prolactina, que estimula la producción de leche por las células mamarias, actúa por unión a un receptor asociado con una par específico de JAK. Estas JAK activan una STAT particular que activa la transcripción de los genes que codifican las proteínas de la leche (Fig. 16-39).

Distintos receptores de citocinas provocan distintas respuestas celulares al activar diferentes STAT. Al igual que toda vía activada por fosforilación, estas señales se

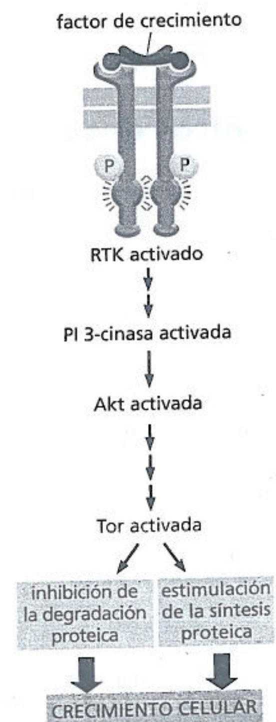


Figura 16-35. La Akt estimula el crecimiento de las células por activación de Tor. La unión de un factor de crecimiento a un RTK activa la vía de señalización de PI-3-cinasa-Akt (como se muestra en la Fig. 16-33). Después, Akt activa indirectamente a Tor (mediante la fosforilación e inhibición de una proteína que ayuda a mantener desactivada a Tor; no mostrado). Tor, que es una serina/treonina cinasa, estimula la síntesis proteica e inhibe la degradación de proteínas (por fosforilación de proteínas clave en estos procesos; no mostrado). El fármaco antineoplásico rapamicina enlentece el crecimiento y la proliferación celulares inhibiendo a Tor.

DILUCIDACIÓN DE LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULAR

Nunca es posible dilucidar las vías de señalización intracelulares en un solo experimento. En lugar de ello, los investigadores descifran pieza por pieza los eslabones de la cadena y cómo contribuye cada uno a la respuesta de la célula a una señal extracelular, por ejemplo la hormona insulina. Este proceso implica descomponer las grandes preguntas acerca de la forma en que responde una célula a la señal en preguntas más pequeñas y más fáciles de manejar: ¿Qué proteína es el receptor de insulina? ¿Qué proteínas intracelulares se activan en presencia de insulina? ¿Con qué proteínas interactúan estas proteínas activadas? ¿Cómo activa una proteína a las otras? Aquí, se analizan los tipos de experimentos que dan respuestas a estos enigmas.

Fosforilación estimulada

Cuando las células son expuestas a una molécula de señalización extracelular, uno de los resultados es la fosforilación de numerosas proteínas. Algunas de ellas serán proteínas de señalización intracelular responsables de propagar el mensaje; otras serán proteínas efectoras responsables de la respuesta celular. Para determinar qué moléculas han sido activadas por fosforilación, los investigadores rompen y abren la célula, separan las proteínas según su tamaño sobre un gel (como se explica en el capítulo 4, láminas 4-4 a 4-6, pp. 164-167) y después, utilizan anticuerpos para detectar las proteínas fosforiladas.

Otra forma común de visualizar proteínas recién fosforiladas consiste en marcar a las células con una versión radiactiva del ATP cuando se las expone a una molécula de señalización extracelular. Las proteincinasas activadas por la señal transfieren el fosfato radiactivo del ATP marcado a sus sustratos proteicos. También en este caso, se separan las proteínas celulares sobre un gel, pero esta vez las proteínas marcadas radiactivamente se pueden detectar exponiendo el gel a una película de rayos X.

Encuentros cercanos

Una vez identificadas las proteínas activadas, se puede determinar cuáles son las proteínas que interactúan con ellas. Para identificar las proteínas interactuantes, los científicos con frecuencia recurren a *coinmunoprecipitación*. En esta técnica, se utilizan anticuerpos que se adhieren a una proteína específica y la arrastran fuera de la solución y hacia la base del tubo de ensayo (según se explica en el capítulo 4, lámina 4-3, pp. 144-145). Si la proteína capturada está unida a otras proteínas, estas también serán arrastradas hacia abajo. Así, los investigadores pueden identificar qué proteínas interactúan cuando una molécula de señalización extracelular estimula la célula.

Una vez que se sabe que dos proteínas se unen entre sí, el experimentador puede proceder a identificar qué partes de las proteínas son necesarias para la interacción. A menudo, esto implica usar tecnología de DNA recombinante para construir una serie de proteínas mutantes, cada una de las cuales difiere ligeramente de la proteína normal. Por ejemplo, para determinar con qué tirosina fosforilada del receptor tirosincinasa (RTK) se une una cierta proteína de señalización intracelular, se utiliza una serie de receptores mutantes, cada uno de los cuales carece de una tirosina diferente de su dominio citoplasmático (Fig. 16-36). De esta manera, se pueden determinar las tirosinas específicas requeridas para la unión. De modo similar, se puede determinar si se necesita este sitio de acoplamiento de tirosina para que el receptor transmita una señal a la célula.

Obstrucción de la vía

Por último, se desea evaluar cuán importante es una proteína particular en el proceso de señalización. Una primera prueba consiste en introducir en la célula, mediante tecnología de DNA recombinante, un gen que codifique una forma de la proteína constantemente activa, a fin de observar si esto simula el efecto de la señal extracelular. Por ejemplo, el caso de Ras. La forma de Ras involucrada en los cánceres humanos está constantemente activa porque ha perdido la capacidad de hidrolizar el GTP que la mantiene en estado de actividad. Esta forma de Ras continuamente activa puede estimular la proliferación de algunas células incluso en ausencia de mitógenos inductores de división celular, lo que promueve la aparición de cáncer (Fig. 16-37).

La última prueba de la importancia de una proteína intracelular en una vía de señalización consiste en desactivar la proteína o su gen y comprobar si esto afecta la vía de señalización. En el caso de Ras, por ejemplo, se puede introducir en las células una forma mutante de Ras "negativa dominante". Esta forma defectuosa de Ras se une estrechamente al GDP y, por ende, no puede ser activada. Dado que aún puede unirse a otros componentes señalizadores de la vía, obstruye la vía e impide que las copias normales de Ras realicen su tarea (por eso se la llama 'dominante'). Estas células atascadas no proliferan en respuesta a mitógenos, lo que indica la importancia de las señales de Ras normal en la respuesta proliferativa. Otra forma de desactivar la proteína de una célula es usar un RNA de interferencia pequeño (siRNA) para degradar el mRNA que codifica la proteína o para impedir la traducción del mRNA a proteína (véase Fig. 8-27).

Ordenamiento de la vía

Se necesitan décadas para descifrar la mayoría de las vías de señalización. Aunque la insulina se aisló por primera vez del páncreas del perro a comienzos de la década de 1920, todavía no se conoce por completo la cadena molecular de eventos que vinculan la unión de la insulina a su receptor con la activación de las proteínas transportadoras que captan la glucosa.

Una estrategia poderosa que utilizan los científicos para identificar las proteínas que participan en la señalización celular consiste en estudiar una gran cantidad de animales. Por lo general, esto implica tratar decenas de miles de moscas de la fruta o de nematodos con un mutágeno y después, buscar mutantes en los que no funciona bien una vía de señalización. Las moscas y

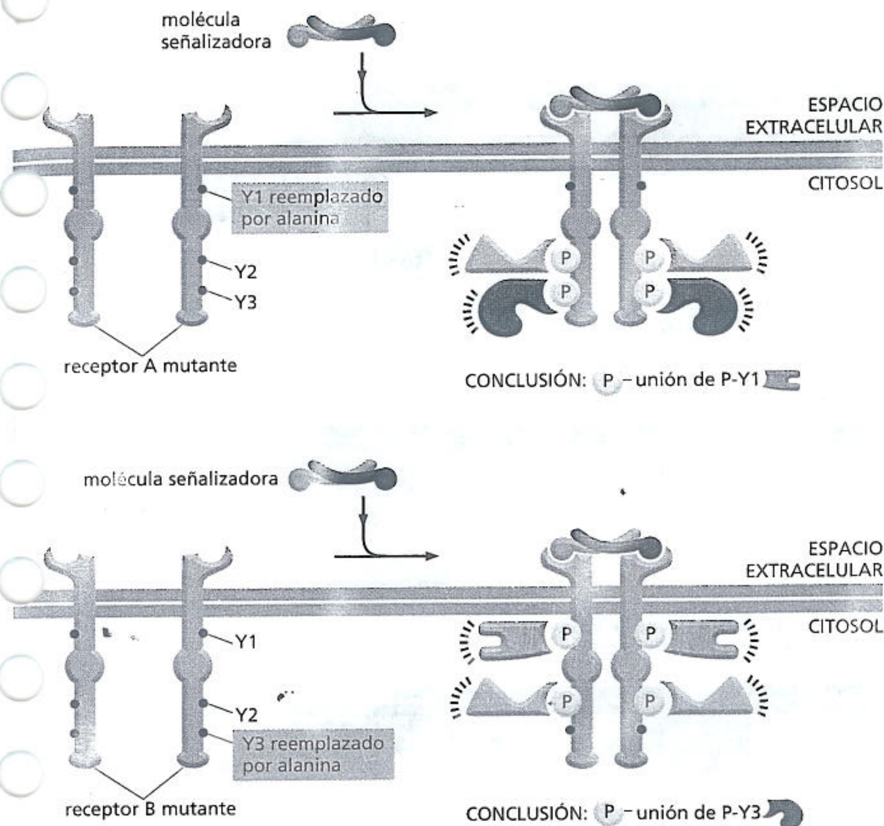


Figura 16-36. Las proteínas mutantes pueden ayudar a determinar con exactitud el sitio en el que se une una molécula de señalización intracelular. Como se muestra en la figura 16-30, al unirse su molécula de señalización extracelular, dos receptores tirosincinasa se acercan y fosforilan tirosinas específicas de la cola citoplasmática del otro receptor. Estas tirosinas fosforiladas atraen distintas moléculas de señalización intracelular, que luego se activan y transmiten la señal. Para determinar qué tirosina se une a una molécula de señalización intracelular específica, se construyen una serie de receptores mutantes. En los mutantes ilustrados, se han reemplazado tirosinas aisladas (Y1 o Y3) por una alanina. Como resultado, los receptores mutantes ya no se unen a una de las proteínas de señalización intracelular mostrada en la figura 16-30. Después, se puede determinar el efecto sobre la respuesta de la célula a la señal. Es importante que el receptor mutante sea investigado en una célula que no tenga sus propios receptores normales para la molécula señalizadora.

los nematodos son útiles porque se reproducen con rapidez, y se pueden mantener grandes cantidades en el laboratorio. Si se examina un número suficiente de animales mutantes, es posible identificar muchos de los genes que codifican las proteínas que participan en una cascada de señalización, como receptores, proteincinasas, proteínas reguladoras de genes, etcétera.

Estas investigaciones genéticas sistemáticas ayudan a determinar el orden en que actúan las proteínas de señalización intracelular en una vía. Suponga que una investigación genética sistemática revela dos proteínas nuevas, X e Y, en la vía de señalización de Ras. Como hipótesis de trabajo, imagine que el receptor activa la proteína X, que después activa a Ras, que activa, a su vez, a la proteína Y (Fig. 16-38A). Para investigar la hipótesis, se podría introducir una forma mutante de X o de Y en la célula, y después preguntar si el mutante puede ser "rescatado" mediante el agregado de una forma continuamente activa de Ras. Si ésta supera el bloqueo creado por la proteína mutante, Ras debe operar corriente abajo de esa proteína en la vía (Fig. 16-38B). Si Ras operara corriente arriba de la proteína en la vía, una Ras constantemente activa no podría transmitir una señal más allá de la obstrucción causada por la proteína defectuosa (Fig. 16-38C).

Utilizadas en conjunto, estas técnicas bioquímicas y genéticas permiten interpretar incluso las vías de señalización intracelular más complejas.

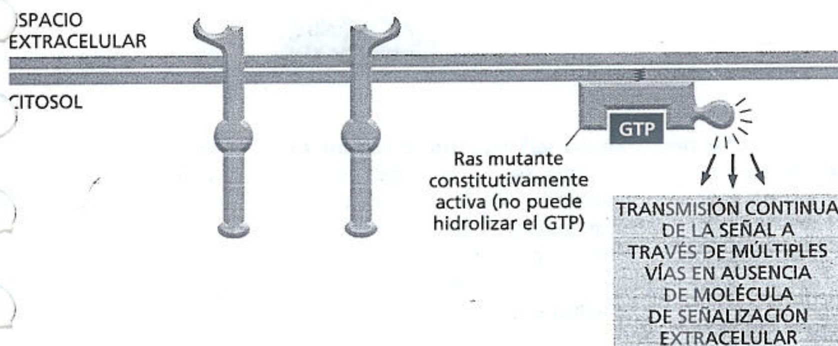
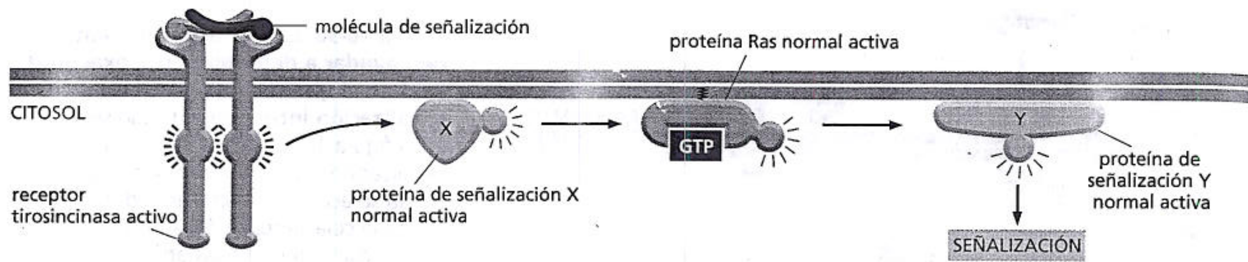
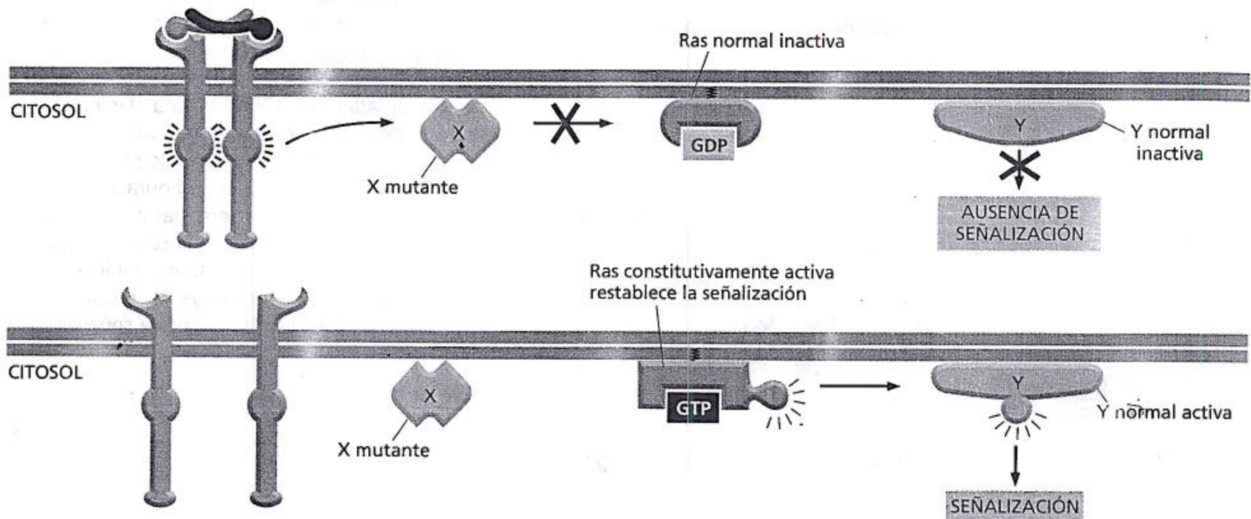


Figura 16-37. Una forma constitutivamente activa de Ras transmite una señal incluso en ausencia de una molécula de señalización extracelular. Como se muestra en la figura 16-31, la proteína Ras normal se activa en respuesta a ciertas señales extracelulares. La forma mutante, hiperactiva, de Ras aquí mostrada ha perdido su capacidad de hidrolizar el GTP. Por lo tanto, no puede detener su actividad y permanece en actividad constante (constitutiva).





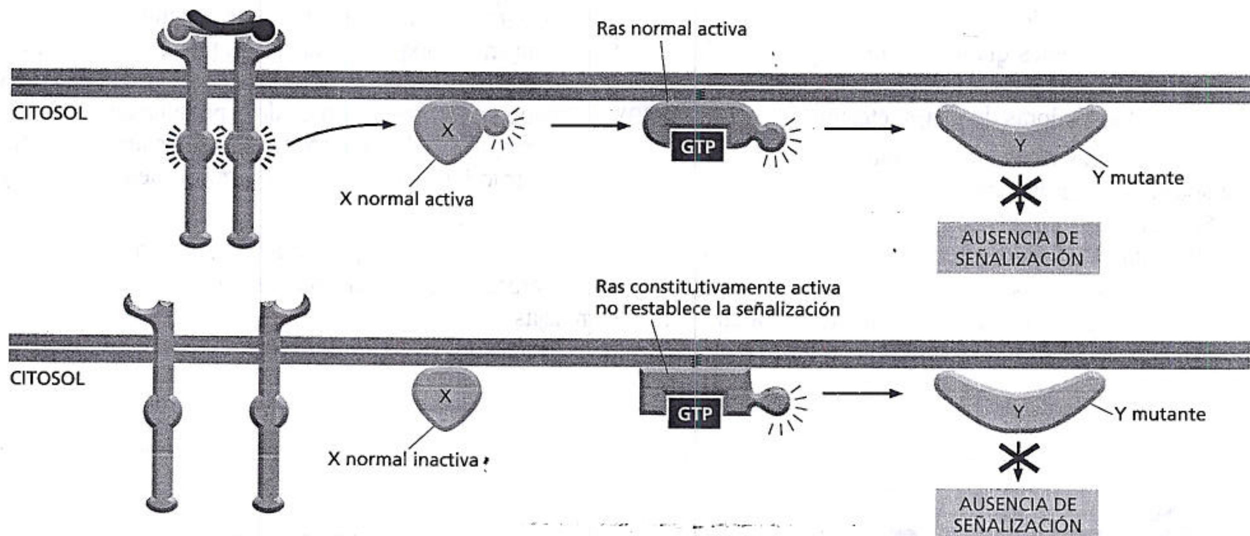


Figura 16-38. El análisis genético revela el orden en el que actúan las proteínas de señalización intracelular en una vía. Una vía de señalización puede ser desactivada por mutaciones de cualquiera de sus componentes. Aquí, se muestra cómo una hipotética vía de señalización de Ras (A) puede ser desactivada por una mutación de la proteína X (B) o de la proteína Y (C). El agregado de una forma constitutivamente activa de Ras a estas células puede ayudar a revelar en qué lugar de la vía se localizan las proteínas mutantes. Añadir Ras en forma activa continuamente a células con una mutación X restablece la actividad de la vía y permite que la señal se transmita aun en ausencia de una molécula de señalización extracelular (B). Una Ras hiperactiva puede rescatar a estas células porque se localiza corriente abajo de la proteína X mutante que está obstruyendo la vía. Por el contrario, añadir una Ras continuamente activa a células con una mutación de la proteína Y no produce este efecto, porque Ras se encuentra corriente arriba del bloqueo (C).

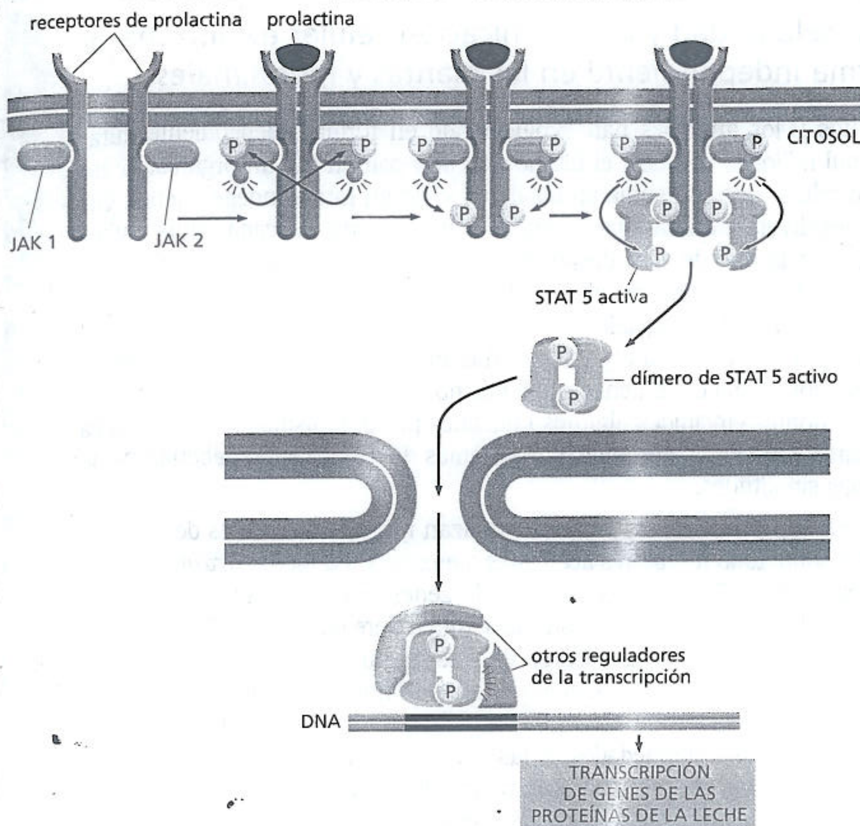


Figura 16-39. La hormona prolactina estimula la producción de leche mediante la activación de una vía de señalización de JAK-STAT. La unión de la prolactina a sus receptores acoplados a enzimas hace que las tirosincinasas asociadas (en este caso, JAK1 y JAK2) se fosforilen y activen entre sí. Después, las JAK activadas fosforilan las proteínas receptoras. Los reguladores de la transcripción denominados STAT (en este caso, STAT5), presentes en el citosol, se unen después a las fosfotirosinas del receptor, y las JAK fosforilan y activan también a estas proteínas. Luego, las STAT activadas se disocian de las proteínas receptoras, se dimerizan y migran al núcleo. Allí, con la ayuda de otros reguladores de la transcripción, activan la transcripción de genes que codifican las proteínas de la leche.

desactivan por la acción de fosfatasas que eliminan los grupos fosfato de las proteínas de señalización activadas.

La proteína receptora Notch, que controla, entre otras cosas, el desarrollo de las células nerviosas de *Drosophila* (véase Fig. 16-4), utiliza una vía de señalización aun más directa. En esta vía, el propio receptor actúa como regulador de la transcripción. Al ser activado por la unión de Delta, que está unida a una célula vecina, el receptor Notch es degradado. Esta fragmentación libera la cola citosólica del receptor, que se dirige al núcleo donde ayuda a activar el grupo apropiado de genes que responden a Notch (Fig. 16-40). Esta vía de señalización utiliza la manera más simple y directa de transmitir una señal de un receptor de la superficie celular al núcleo.

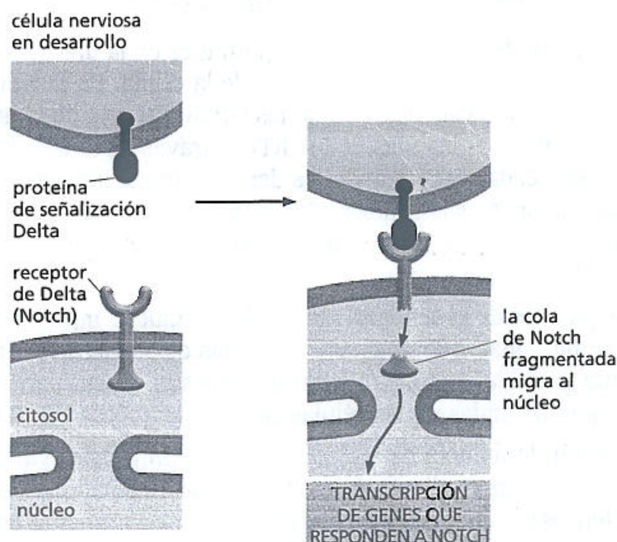


Figura 16-40. El receptor Notch es, en sí mismo, un regulador de la transcripción. Cuando la proteína de señalización unida a la membrana Delta se une con su receptor, Notch, en una célula vecina, éste es escindido. La parte liberada de la cola citosólica de Notch migra al núcleo, donde activa genes que responden a Notch. La figura 16-4 muestra una de las consecuencias de este proceso de señalización.

La pluricelularidad y la comunicación celular evolucionaron en forma independiente en las plantas y los animales

Las plantas y los animales han evolucionado en forma independiente durante más de mil millones de años, el último ancestro común fue un organismo eucarionte unicelular que con suma probabilidad vivió en forma independiente. Como estos reinos divergieron hace tanto tiempo –cuando todavía "cada célula vivía por separado"– cada uno de ellos desarrolló sus propias soluciones moleculares para el problema de convertirse en pluricelulares. Así, los mecanismos de comunicación intercelular de los vegetales y los animales evolucionaron de manera independiente, por lo que cabría esperar que fueran muy diferentes. Sin embargo, los vegetales y los animales comenzaron al mismo tiempo con un conjunto común de genes eucariontes –incluidos algunos utilizados por organismos unicelulares para comunicarse entre sí– y, por ende, sus sistemas de señalización deberían presentar algunas similitudes.

Al igual que los animales, los vegetales utilizan muchos receptores de la superficie celular, sobre todo receptores acoplados a enzimas. La hierba *Arabidopsis thaliana* (véase Fig. 1-33) tiene centenares de genes que codifican receptores serina/treonina cinasas. Sin embargo, su estructura difiere de la de los hallados en las células animales (que no se analizaron en este capítulo). Se cree que los receptores vegetales desempeñan un papel importante en una gran variedad de procesos de señalización celular, entre ellos los que gobiernan el crecimiento, el desarrollo y la resistencia a las enfermedades de las plantas. A diferencia de las células animales, las células vegetales no parecen utilizar RTK, receptores nucleares del tipo hormonas esteroides ni AMP cíclico, y en apariencia, usan pocos GPCR.

Uno de los sistemas de señalización mejor estudiados en las plantas media las respuestas de la célula al etileno: una hormona gaseosa que regula diversos procesos de desarrollo, entre ellos la germinación de las semillas y la maduración de los frutos. Los cultivadores de tomates utilizan etileno para madurar los frutos, incluso después de cosechados. Los receptores de etileno no pertenecen a ninguna de las clases de proteínas receptoras analizadas hasta ahora. Son proteínas transmembrana diméricas, y lo sorprendente es que el receptor vacío es el que es activo. En ausencia de etileno, el receptor vacío activa una proteincinasa que, finalmente, desactiva los genes que responden a etileno del núcleo. Cuando hay etileno, el receptor y la cinasa son inactivos, y se transcriben los genes que responden a etileno (**Fig. 16-41**). Las plantas suelen recurrir a esta estrategia en la que las señales actúan liberando la inhibición de la transcripción.

Las redes de proteincinasas integran información que controla comportamientos complejos de la célula

En este capítulo, se han descrito varias vías importantes en la transmisión de una señal desde la superficie celular hacia el interior de la célula. En la **figura 16-42**, se comparan cinco de estas vías: las vías de los GPCR a través de la adenilatociclasa y de la fosfolipasa C, y las vías de los RTK a través de la fosfolipasa C, de Ras y de PI 3-cinasa. Cada vía difiere de las demás, aunque utilizan componentes comunes para transmitir sus señales. Como todas estas vías finalmente activan proteincinasas, parece que cada una es capaz, en principio, de regular casi cualquier proceso de la célula.

De hecho, la complejidad de la señalización celular es mucho mayor de la que se ha descrito. No se han analizado muchas de las vías de señalización intracelular con las que cuenta la célula, aunque muchas de ellas son críticas para el desarrollo apropiado y están alteradas en las células cancerosas (véase Fig. 20-49).

No se ha descrito aún la manera de interactuar de las principales vías de señalización. Estas se conectan mediante interacciones de muchas clases, pero los vínculos más extensos son mediados por las proteincinasas presentes en cada una de las vías. A menudo, estas cinasas fosforilan y, por lo tanto, regulan, compo-

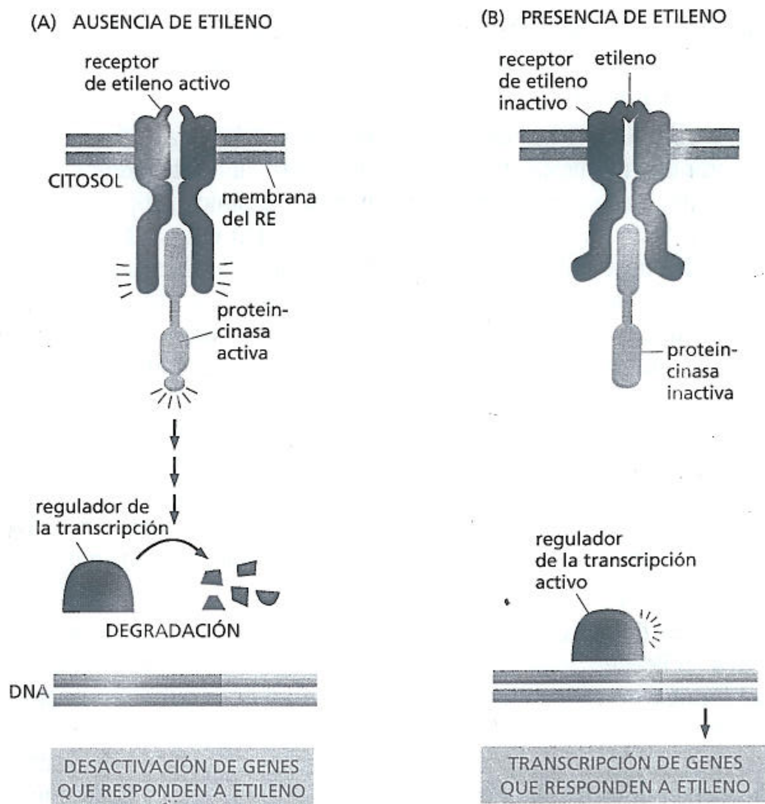


Figura 16-41. La vía de señalización del etileno activa genes por liberación de la inhibición. (A) En ausencia de etileno, el receptor activa directamente una proteincinasa, que promueve después la destrucción del regulador de la transcripción que activa los genes que responden a etileno. En consecuencia, los genes permanecen desactivados. (B) En presencia de etileno, tanto el receptor como la cinasa están inactivos, y el regulador de la transcripción se mantiene intacto y estimula la transcripción de los genes que responden a etileno. La cinasa con la que interactúan los receptores de etileno es una serina/treonina cinasa estrechamente relacionada con la MAP cinasa cinasa cinasa hallada en las células animales (véase Fig. 16-32).

nentes de otras vías de señalización, además de los componentes de la vía a la que pertenecen. Así, existe cierto grado de intercomunicación entre las distintas vías (véase Fig. 16-42) y de hecho, entre casi todos los sistemas de control de la célula. Para dar una idea de la escala de complejidad, estudios de secuenciación del genoma indican que alrededor del 2% de nuestros ~20.000 genes codificadores de proteínas codifican proteincinasas; además, se cree que hay centenares de

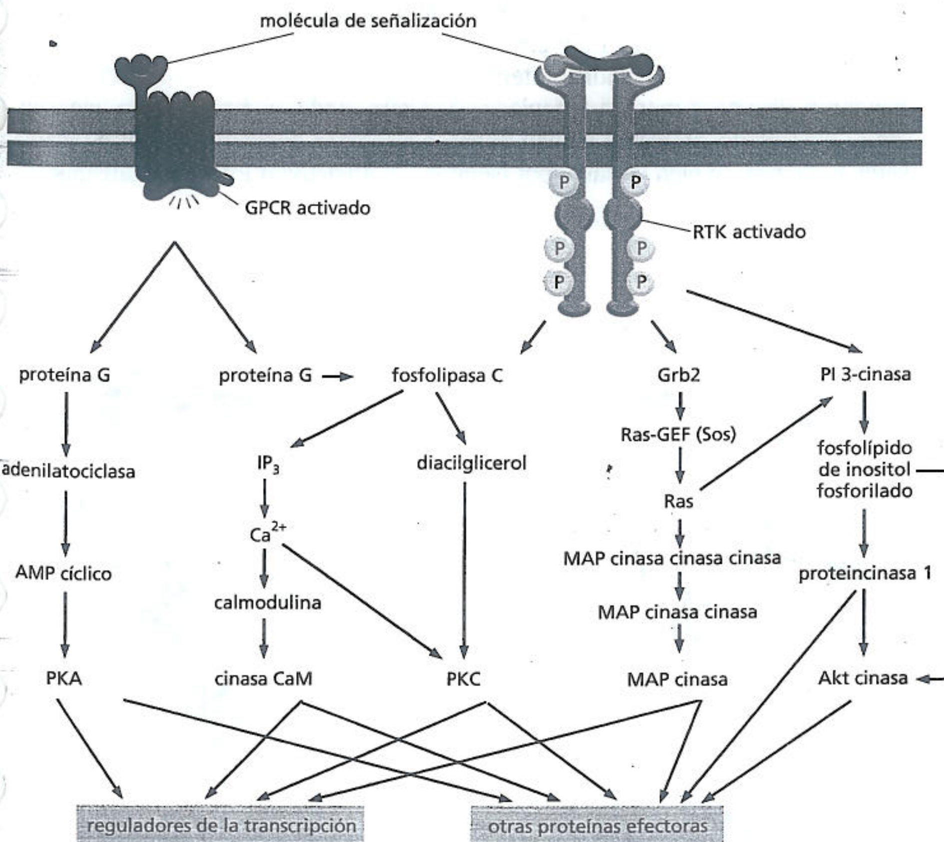


Figura 16-42. Las vías de señalización pueden estar muy interconectadas. El diagrama representa esquemáticamente dos vías que parten de GPCR: la vía de la adenilatociclasa y la vía de la fosfolipasa C, y tres vías que se inician en los RTK: la vía de la fosfolipasa C, la vía de Ras y la vía de la PI-3-cinasa. Las proteincinasas de estas vías fosforilan muchas proteínas, incluidas proteínas pertenecientes a otras vías. La densa red de interconexiones reguladoras resultante se simboliza con *flechas rojas* que irradian de cada proteína sombreada en *amarillo*; algunas cinasas fosforilan algunas de las mismas proteínas efectoras. Los segundos mensajeros intracelulares, como el Ca^{2+}, también pueden influir en la actividad de múltiples vías.

tipos diferentes de proteincinasas en una sola célula de mamífero. ¿Cómo podemos entender el sentido de esta compleja red de vías de señalización interactuantes y cuál es la función de esta complejidad?

Una célula recibe mensajes de muchas fuentes y debe integrar esta información para generar una respuesta apropiada: vivir o morir, dividirse o diferenciarse, cambiar de forma, trasladarse o enviar un mensaje químico propio, etc. (Películas 16.7, 16.8 y 16.9). A través de la intercomunicación entre las vías de señalización, la célula puede unir dos o más fragmentos de información y reaccionar frente a esa combinación. Así, algunas proteínas de señalización intracelular actúan como dispositivos de integración, en general por tener varios sitios posibles de fosforilación, y cada uno puede ser fosforilado por una proteincinasa diferente. La información recibida de distintas fuentes puede converger en estas proteínas, que luego convierten la señal recibida en una señal de salida única (Fig. 16-43 y véase Fig. 16-13). A su vez, las proteínas integradoras pueden enviar una señal a muchas dianas corriente abajo. De este modo, el sistema de señalización intracelular puede actuar como una red neuronal en el cerebro –o como una colección de microprocesadores en un ordenador– que interpreta información compleja y genera respuestas complejas.

La exploración de las vías que utilizan las células para procesar señales de su medio nos ha llevado desde los receptores de la superficie celular hasta las proteínas que forman los elaborados sistemas de control que operan en la profundidad del interior de la célula. Se ha examinado una gran serie de redes de señalización que permiten que las células combinen y procesen las aferencias de distintas fuentes, almacenen información y respondan de una manera apropiada que beneficia al organismo. Sin embargo, el conocimiento de esta intrincada red aún está en evolución, todavía se están descubriendo nuevas uniones en las cadenas, nuevos compañeros de señalización, nuevas conexiones e, incluso, nuevas vías.

Desentrañar estas vías de señalización –tanto en los animales como en las plantas– es una de las áreas de investigación más activas, y todos los días se hacen descubrimientos nuevos. Los proyectos de secuenciación de genomas siguen aportando largas listas de componentes involucrados en la transducción de señales, en una gran variedad de organismos. Sin embargo, aunque se han identificado las piezas, sigue siendo muy complejo establecer con exactitud cómo se encajan para permitir que la células integren las diversas señales de su medio y respondan a ellas de la manera apropiada. De algún modo, aprender cómo 'piensan' las células es un problema similar a aprender cómo pensamos nosotros, como seres humanos. Si bien se sabe, por ejemplo, cómo activan los neurotransmisores

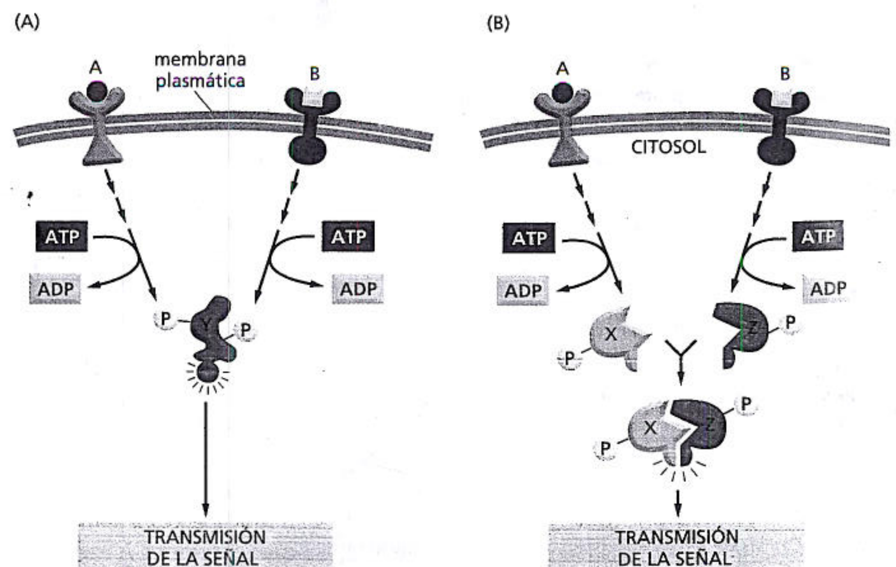


Figura 16-43. Algunas proteínas de señalización intracelular sirven para integrar las señales recibidas. (A) Las señales A y B pueden activar distintas cascadas de fosforilación de proteínas, cada una de las cuales induce la fosforilación de la proteína Y, pero en distintos sitios. La proteína Y se activa sólo cuando ambos sitios están fosforilados y, por ende, es activa sólo cuando coexisten las señales A y B. (B) Alternativamente, las señales A y B pueden inducir la fosforilación de dos proteínas, X y Z, que luego se unen entre sí originando la proteína activa XZ.

ciertas neuronas y cómo una neurona se comunica con otra, se está muy lejos de tener un conocimiento fundamental de cómo actúan juntos todos estos componentes para permitirnos razonar, conversar, reír, amar e intentar descifrar los fundamentos naturales del universo y la vida en la Tierra.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Las células de los organismos pluricelulares se comunican entre sí mediante una gran variedad de señales químicas extracelulares.
- En los animales, la sangre transporta las hormonas a células diana distantes, pero la mayor parte de las otras moléculas señalizadoras extracelulares actúan a corta distancia. A menudo, las células vecinas se comunican entre sí por contacto intercelular directo.
- Las moléculas de señalización extracelular estimulan una célula diana cuando se unen a proteínas receptoras y las activan. Cada proteína receptora reconoce una molécula señalizadora particular.
- Las moléculas de señalización extracelular pequeñas e hidrófobas, como las hormonas esteroides y el óxido nítrico, pueden difundir directamente a través de la membrana plasmática; activan proteínas intracelulares, que suelen ser reguladores de la transcripción o enzimas.
- La mayor parte de las moléculas de señalización extracelular no pueden atravesar la membrana plasmática; se unen a proteínas receptoras de la superficie celular que convierten (transducen) la señal extracelular a distintas señales intracelulares.
- Existen tres tipos principales de receptores de superficie: (1) receptores acoplados a canales iónicos, (2) receptores acoplados a proteínas G y (3) receptores acoplados a enzimas.
- Los GPCR y los receptores acoplados a enzimas responden a señales extracelulares mediante la activación de vías de señalización intracelular que modifican el comportamiento de la célula.
- La desactivación de las vías de señalización es tan importante como su activación. Cada componente activado de una vía de señalización debe ser desactivado o eliminado después para que la vía vuelva a funcionar.
- Los GPCR activan un tipo de proteínas de unión al GTP triméricas, llamadas proteínas G; estas proteínas actúan como interruptores moleculares, transmiten la señal por un breve período y, luego, se desactivan por hidrólisis del GTP unido a GDP.
- Algunas proteínas G regulan directamente canales iónicos de la membrana plasmática. Otras activan (o desactivan) en forma directa la enzima adenilatociclasa y aumentan la concentración intracelular de AMP cíclico, un segundo mensajero. Otras proteínas G activan directamente la enzima fosfolipasa C, lo que genera las moléculas mensajeras pequeñas inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol.
- El IP_3 abre los canales de Ca^{2+} de la membrana del retículo endoplasmático, lo que libera un gran flujo de iones Ca^{2+} libres al citosol. El propio Ca^{2+} actúa como un segundo mensajero intracelular y modifica la actividad de gran cantidad de proteínas que responden a Ca^{2+}, por ejemplo calmodulina, que activa diversas proteínas diana, como proteincinasas dependientes de Ca^{2+} y calmodulina (cinasas CaM).
- Un aumento del AMP cíclico activa la proteincinasa A (PKA), mientras que el Ca^{2+} y el diacilglicerol combinados activan la proteincinasa C (PKC).
- La PKA, la PKC y las cinasas CaM fosforilan serinas y treoninas de determinadas proteínas diana, lo que modifica la actividad de las proteínas. Distintos tipos celulares contienen diferentes grupos de proteínas diana y, por lo tanto, son afectados de distintas maneras.
- Muchos receptores aclopados a enzimas tienen dominios proteicos intracelulares que actúan como enzimas; muchos son receptores tirosincinasa (RTK), que fosforilan tirosinas de ellos mismos y de determinadas proteínas de señalización intracelular.

- Las fosfotirosinas de los RTK activados sirven como sitios de acoplamiento para diversas moléculas de señalización intracelular, que en general incluyen a la pequeña proteína de unión a GTP Ras. Ras activa un módulo de señalización MAP-cinasa de tres proteínas que ayuda a transmitir la señal desde la membrana plasmática hasta el núcleo.
- Las mutaciones que estimulan la proliferación celular porque determinan que Ras permanezca en actividad constante son una característica común de muchos cánceres humanos.
- Algunos RTK estimulan el crecimiento celular y la supervivencia celular al activar la PI 3-cinasa, que fosforila fosfolípidos de inositol específicos y producen sitios de acoplamiento lipídicos en la membrana plasmática que permiten que ciertas proteínas de señalización se reúnan y se activen entre sí.
- Algunos receptores, como los receptores Notch y de citocinas, activan una vía directa al núcleo. En lugar de activar cascadas de señalización, activan proteínas reguladoras de la transcripción en la membrana plasmática, que después migran al núcleo donde activan determinados genes.
- Las plantas, al igual que los animales, utilizan receptores de la superficie celular acoplados a enzimas que controlan su crecimiento y desarrollo.
- En las plantas, las señales extracelulares a menudo actúan liberando la represión de la transcripción de genes que responden a señales.
- Las distintas vías de señalización intracelular interactúan, lo que permite que las células produzcan una respuesta apropiada a una compleja combinación de señales. Algunas combinaciones de señales permiten que la célula sobreviva; otras inducen proliferación celular; y, en ausencia de señales, la mayoría de las células animales se autodestruirán por apoptosis.

PALABRAS CLAVE

adaptación
adenilatociclasa
AMP cíclico
calmodulina
citocina
diacilglicerol (DAG)
fosfoinositida 3-cinasa (PI 3-cinasa)
fosfolipasa C
fosfolípido de inositol
GTPasa monomérica
hormona
hormona esteroide
inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3)
interruptor molecular
MAP-cinasa
mediador local
módulo de señalización de MAP-cinasa
molécula de señalización extracelular
molécula de señalización intracelular
neurotransmisor
óxido nítrico (NO)
pequeño mensajero
proteína de unión a GTP
proteína G
proteincinasa
proteincinasa A dependiente de AMP cíclico (PKA)
proteincinasa C (PKC)
proteincinasas dependientes de Ca2+ y calmodulina (cinasas CaM)
proteinfosfatasa
Ras
receptor acoplado a canales iónicos
receptor acoplado a enzimas
receptor acoplado a proteínas G (GPCR)
receptor nuclear
receptor serina/treonina cinasa
receptor tirosincinasa (RTK)
receptor, proteína receptora
segundo mensajero
señalización celular
serina/treonina cinasa
tirosincinasa
transducción de señales
vía de señalización intracelular

PREGUNTAS

PREGUNTA 16-10

Si alguno de los receptores de la superficie celular, incluidos los receptores de citocinas y Notch, pueden enviar señales al núcleo con rapidez por activación de reguladores de la transcripción latentes en la membrana plasmática, ¿por qué la mayoría de los receptores de la superficie celular tienen largas cascadas de señalización indirectas que influyen en la transcripción de genes en el núcleo?

PREGUNTA 16-11

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Justifique sus respuestas.

A. En distintos tipos de células de un animal, la molécula de señalización extracelular acetilcolina ejerce diferentes efectos y, a menudo, se une a distintas moléculas receptoras de la superficie celular.

B. Una vez secretada por las células, la acetilcolina tiene una vida prolongada porque debe llegar a células diana de todo el cuerpo.

C. Tanto la subunidad α unida al GTP como el complejo βγ libre de nucleótidos –a diferencia de las proteínas G completamente ensambladas y unidas al GDP– pueden activar otras moléculas corriente debajo de los GPCR.

D. El IP_3 se produce directamente por fragmentación de un fosfolípido de inositol sin la incorporación de un grupo fosfato adicional.

E. La calmodulina regula la concentración intracelular de Ca^{2+}.

F. Las distintas señales originadas en la membrana plasmática se pueden integrar por medio de la intercomunicación entre las distintas vías de señalización intracelular.

G. La fosforilación de la tirosina crea sitios de unión de modo que otras proteínas se unen a RTK.

PREGUNTA 16-12

La proteína Ras actúa como un interruptor molecular que se activa por acción de otras proteínas que hace que expulse al GDP unido y se una a GTP. Una proteína activadora de GTPasa ayuda a desactivarla al inducir a Ras a hidrolizar el GTP unido a GDP con mayor rapidez que de no mediar esta intervención. Así, la proteína Ras actúa como lo haría un interruptor de luz encendido por una persona y apagado por otra. Usted recibe una célula mutante que carece de la proteína activadora de GTPasa. ¿Qué anormalidades esperaría encontrar en el modo de respuesta de la actividad Ras a las señales extracelulares?

PREGUNTA 16-13

A. Compare y comente las diferencias entre la señalización producida por las neuronas, que secretan neurotransmisores en las sinapsis, y la señalización que llevan a cabo las células endocrinas, que secretan hormonas en el torrente sanguíneo.

B. Explique las ventajas relativas de ambos mecanismos.

PREGUNTA 16-14

Dos moléculas intracelulares, X e Y, se sintetizan normalmente a una velocidad constante de 1.000 moléculas por segundo, por célula. La molécula X se degrada con lentitud: cada molécula de X sobrevive 100 segundos en promedio. La molécula Y se degrada 10 veces más rápido: cada molécula de Y sobrevive 10 segundos en promedio.

A. Calcule cuántas moléculas de X e Y contiene la célula en un momento dado.

B. Si las velocidades de síntesis de X y de Y aumentan repentinamente diez veces –a 10.000 moléculas por segundo por célula– sin ningún cambio de las velocidades de degradación, ¿cuántas moléculas de X y de Y habrá después de un segundo?

C. ¿Qué molécula preferiría para una señalización rápida?

PREGUNTA 16-15

"Uno de los grandes reyes del pasado gobernaba un enorme reino que era más hermoso que cualquier otro lugar del mundo. Cada planta relucía con el brillo del jade pulido, y las suaves colinas onduladas eran tan lustrosas como las olas del mar en verano. La sabiduría de todas sus decisiones se basaba en un flujo constante de información que le llegaba por medio de mensajeros que le contaban cada detalle de lo que sucedía en su reino para que pudiera adoptar acciones rápidas y apropiadas cuando fuera necesario. A pesar de tanta belleza y eficiencia, su pueblo se sentía condenado por vivir bajo su mando, porque tenía un consejero que había estudiado la transducción de señales en la célula y administraba el Departamento de Información del rey de acuerdo con ella. El consejero había implementado la política de que todos los mensajeros fueran decapitados en forma inmediata al ser ubicados por la Guardia Real, porque para que la señalización fuera rápida la vida de los mensajeros debía ser breve. Su súplica '¡No me hieran, soy sólo el mensajero!' no servía de nada, y la gente del reino sufría terriblemente por la rápida pérdida de sus hijos e hijas". ¿Por qué es inapropiada la analogía en la que se basaba la política del consejero del rey? Analice brevemente las características que diferencian las vías de señalización celular de la vía de comunicación humana descrita en esta historia.

PREGUNTA 16-16

En una serie de experimentos se introducen en las células genes que codifican formas mutantes de un RTK. Las células también expresan su propia forma normal del receptor a partir de sus genes normales, aunque los genes mutantes se crearon de manera de que el RTK mutante se exprese en concentraciones bastante más altas que el RTK normal. ¿Cuáles serían las consecuencias de introducir un gen mutante que codificara un RTK (A) que careciera de su dominio extracelular o (B), que careciera de su dominio intracelular?

PREGUNTA 16-17

Analice la siguiente afirmación: "Las proteínas de membrana que la abarcan muchas veces pueden sufrir un cambio de conformación al unirse un ligando que puede percibirse a cada lado de la membrana. Por lo tanto, cada molécula proteica puede transmitir una señal a través de la membrana. En cambio, las proteínas que abarcan una sola vez la membrana no pueden transmitir un cambio de conformación a través de ella, sino que requieren una oligomerización".

PREGUNTA 16-18

¿Cuáles son las semejanzas y las diferencias entre las reacciones que inducen la activación de las proteínas G y las reacciones que inducen la activación de Ras?

PREGUNTA 16-19

¿Por qué cree que las células utilizan Ca^{2+} (cuya concentración citosólica se mantiene en 10^{-7} M por acción de bombas de Ca^{2+}) para la señalización intracelular, en lugar de otro ión, por ejemplo el Na^{+} (cuya concentración citosólica se mantiene en 10^{-3} M por acción de la bomba de Na^{+})?

PREGUNTA 16-20

Parece un contrasentido que la célula, que dispone de una abundante cantidad de nutrientes, se autodestruya si no recibe una estimulación constante por medio de señales de otras células (véase Fig. 16-6). ¿Cuáles serían las ventajas de esta regulación?

PREGUNTA 16-21

El aumento del Ca^{2+} intracelular desencadena la contracción del sistema actina-miosina en las células musculares. Las células musculares tienen canales de Ca^{2+} especializados –llamados receptores de rianodina por su sensibilidad a este fármaco– que están incluidos en la membrana del retículo sarcoplasmático, una forma especializada de retículo endoplasmático. A diferencia de los canales de Ca^{2+} del retículo endoplasmático regulados por IP_3 mostrados en la figura 16-25, la molécula señalizadora que abre los receptores de rianodina es el propio Ca^{2+}. Analice las consecuencias de los canales de rianodina en la contracción de la célula muscular.

PREGUNTA 16-22

Dos proteincinasas, K1 y K2, funcionan en forma secuencial en una cascada de señalización intracelular. Si una u otra de ellas contiene una mutación que inactiva en forma permanente su función, no se observa ninguna respuesta de las células cuando reciben una señal extracelular. Una mutación diferente en K1 la activa en forma permanente, de modo que, en las células que tienen esa mutación, se observa una respuesta incluso en ausencia de una señal extracelular. Usted caracteriza a una célula mutante doble que contiene K2 con la mutación desactivadora y K1 con la mutación activadora. Observa que la respuesta aparece incluso en ausencia de una señal extracelular. En la vía de señalización normal, ¿K1 activa a K2 o K2 activa a K1? Explique su respuesta.

PREGUNTA 16-23

A. Indique los pasos de una vía de señalización prolongada e indirecta desde un receptor de la superficie celular hasta un cambio en la expresión génica en el núcleo.

B. Compare esta vía con dos vías cortas y directas de la superficie celular al núcleo.

PREGUNTA 16-24

¿Cómo activa PI 3-cinasa a la Akt cinasa después de la activación de RKT?

PREGUNTA 16-25

Las células animales y vegetales tienen mecanismos de señalización intracelular muy diferentes, pero también comparten algunos mecanismos. ¿Cuál cree que es la razón?

CAPÍTULO **DIECISIETE** 17

Citoesqueleto

La capacidad de las células eucariontes de adoptar una diversidad de formas, organizar sus numerosos componentes internos, interactuar mecánicamente con el ambiente y realizar movimientos coordinados depende del **citoesqueleto**, una red compleja de filamentos proteicos que se extiende por todo el citoplasma (Fig. 17-1). Esta arquitectura filamentosa ayuda a sostener el gran volumen citoplasmático de una célula eucarionte, función que tiene particular importancia en las células animales, que no tienen paredes celulares. Aunque algunos componentes citoesqueléticos están presentes en las bacterias, esta estructura es muy prominente en la célula eucarionte grande y compleja desde el punto de vista estructural.

Sin embargo, a diferencia de nuestro esqueleto óseo, el citoesqueleto es una estructura sumamente dinámica que se reorganiza de manera continua a medida que la célula cambia de forma, se divide y responde a su ambiente. El citoesqueleto no sólo representa "los huesos" de una célula, sino también sus "músculos," es el responsable directo de diversos movimientos a gran escala, como el deslizamiento sobre una superficie, la contracción de las células musculares y los cambios de forma celular que se producen durante el desarrollo embrionario. En ausencia del citoesqueleto, las heridas nunca cicatrizarían, los músculos serían inútiles y los espermatozoides jamás alcanzarían el oocito.

Al igual que cualquier otra fábrica en la que se elaboran productos complejos, la célula eucarionte presenta un grado importante de organización interna y concentración de maquinarias especializadas en distintas zonas, pero vinculadas entre sí por sistemas de transporte (véase capítulo 15). El citoesqueleto controla la localización de los orgánulos que llevan a cabo estas funciones especializadas, además de suministrar la maquinaria para el transporte entre ellos. También es responsable de la segregación de los cromosomas en células hijas y de la separación de las células durante la división celular, como se analiza en el capítulo 18.

El citoesqueleto está reconstituido por tres tipos de filamentos proteicos: *filamentos intermedios*, *microtúbulos* y *filamentos de actina*. Como se muestra en la Lámina 17-1 (p. 573), cada tipo de filamento tiene diferentes propiedades mecánicas y está formado por una subunidad proteica distinta. Los filamentos interme-

FILAMENTOS INTERMEDIOS

MICROTÚBULOS

FILAMENTOS DE ACTINA

CONTRACCIÓN MUSCULAR

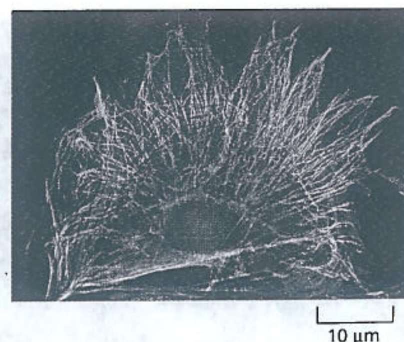


Figura 17-1. El citoesqueleto le otorga a una célula su forma y le permite organizar sus componentes internos. Se ha marcado una célula animal en cultivo para mostrar dos de sus principales sistemas citoesqueléticos, los microtúbulos (*verde*) y los filamentos de actina (*rojo*). El DNA del núcleo está marcado en *azul*. (Cortesía de Albert Tousson).

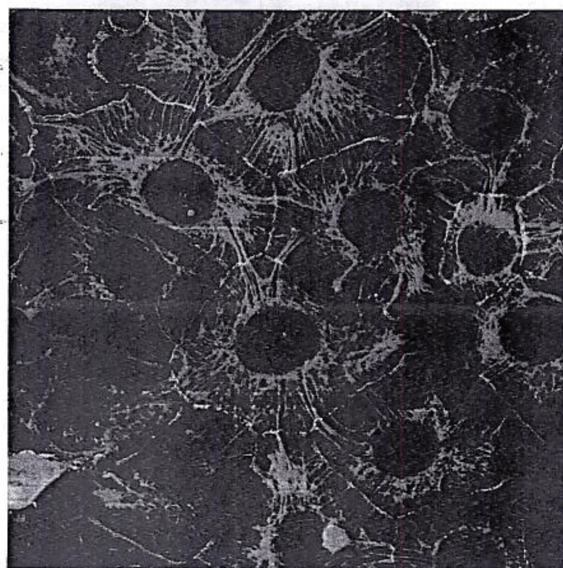
dios están constituidos por una familia de proteínas fibrosas; la *tubulina* es la subunidad de los microtúbulos; y la *actina*, de los filamentos de actina. En cada caso, se ensamblan miles de subunidades que forman una hebra proteica delicada que, a veces, se extiende a través de toda la célula.

En este capítulo, se considerarán la estructura y la función de los tres tipos de redes de filamentos proteicos. Se comienza con los filamentos intermedios que confieren resistencia mecánica a las células. Luego, se ve cómo los apéndices celulares formados por microtúbulos propulsan a las células móviles, como protozoos y espermatozoides, y de qué manera el citoesqueleto de actina actúa como fuerza motriz en un fibroblasto que se arrastra. Por último, se analizan los mecanismos mediante los cuales el citoesqueleto promueve una de las formas más evidentes y mejor estudiadas de movimiento celular: la contracción de los músculos.

FILAMENTOS INTERMEDIOS

Los **filamentos intermedios** tienen gran resistencia a la tensión, y su función principal consiste en permitir que las células toleren las fuerzas mecánicas asociadas con el estiramiento. Estos filamentos se denominan "intermedios" porque, en las células de músculo liso donde fueron descubiertos por primera vez, su diámetro (alrededor de 10 nm) se encuentra entre el de los filamentos delgados de actina y los filamentos más gruesos de miosina. Los filamentos intermedios son los más resistentes y estables de los tres tipos de filamentos del citoesqueleto: en células tratadas con soluciones salinas concentradas y detergentes no iónicos, sobreviven pese a la destrucción de la mayor parte del resto del citoesqueleto.

Los filamentos intermedios se encuentran en el citoplasma de la mayoría de las células animales. Por lo general, forman una red por todo el citoplasma, que rodea al núcleo y se extiende hacia la periferia celular. Estos filamentos suelen estar anclados a la membrana en el sitio de uniones intercelulares, como los desmosomas (véase capítulo 20), donde la cara externa de la membrana está conectada con la de otra célula (Fig. 17-2). También se los encuentra dentro del núcleo; una red de filamentos intermedios, la *lámina nuclear*, subyace a la envoltura nuclear y la refuerza en todas las células eucariontes. En esta sección, se comenta cómo la estructura y el ensamblaje de los filamentos intermedios los hace particularmente adecuados para fortalecer las células y protegerlas de las fuerzas mecánicas.



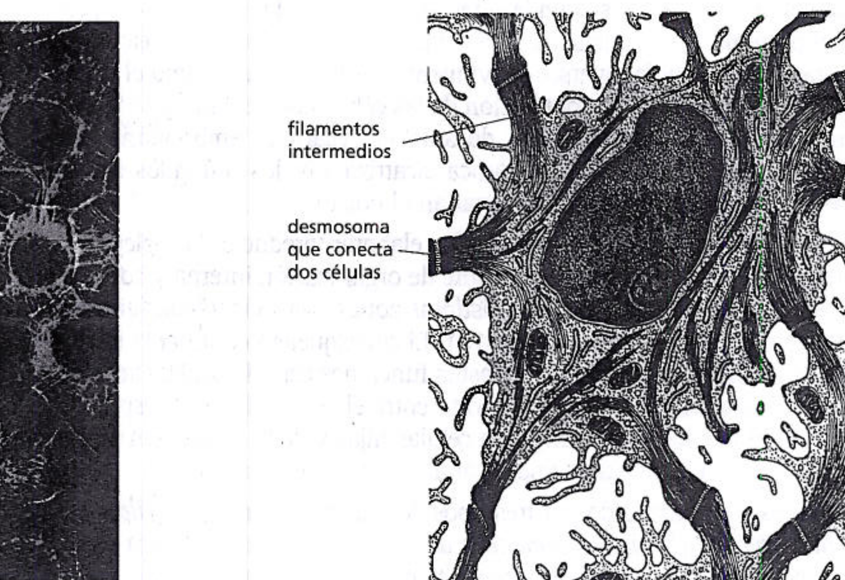
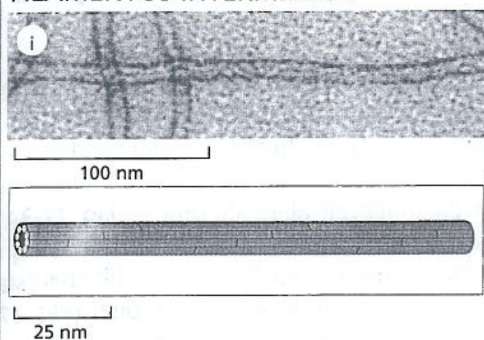
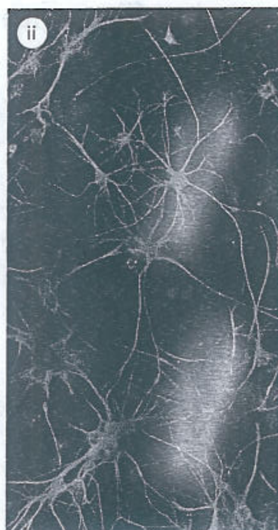


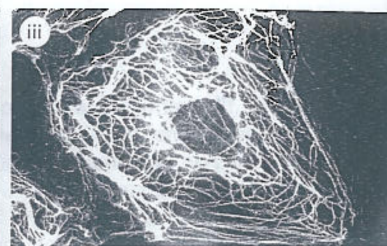
Figura 17-2. Los filamentos intermedios forman una red sólida y resistente en el citoplasma de la célula. (A) Microfotografía de inmunofluorescencia de una lámina de células epiteliales en cultivo, teñidas, que revela la estructura reticular formada por filamentos intermedios de queratina (*verde*), que rodean los núcleos y se extienden a través del citoplasma celular. Los filamentos de cada célula se conectan indirectamente con los de las células vecinas mediante desmosomas (véase Cap. 20), lo que establece una conexión mecánica continua entre las células en todo el tejido. Este nexo mecánico fortalece el epitelio, al permitir que sus células formen una lámina continua que reviste la cavidad tisular. Se ha teñido otra proteína (*azul*) para mostrar la localización de los límites intercelulares. (B) Dibujo de una microfotografía electrónica de un corte de epidermis en el que se observan los haces de filamentos intermedios que atraviesan el citoplasma y se insertan en los desmosomas. (A, cortesía de Kathleen Green y Evangeline Amargo; B, de R. V. Krstic, *Ultrastructure of the Mammalian Cell: An Atlas*. Berlin: Springer, 1979. Con autorización de Springer-Verlag).

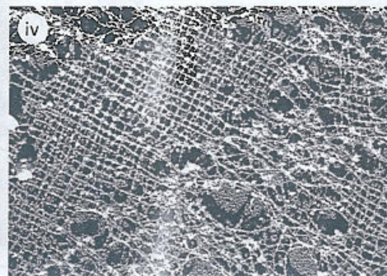
FILAMENTOS INTERMEDIOS







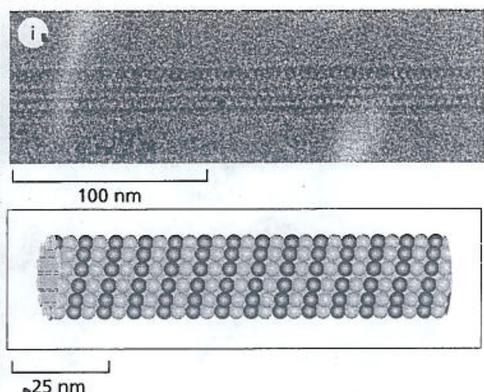


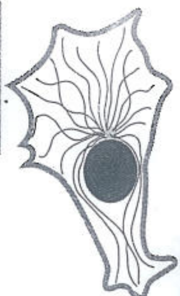


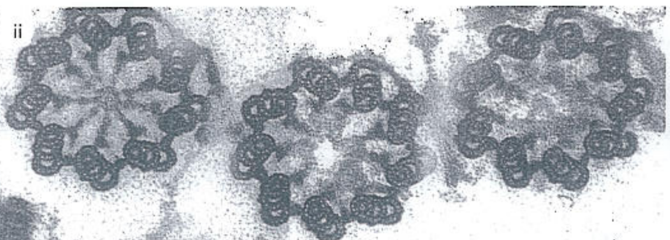
Los filamentos intermedios son fibras que se asemejan a cuerdas de alrededor de 10 nm de diámetro; están compuestos por proteínas que pertenecen a una familia numerosa y heterogénea. Un tipo de filamentos intermedios forma una malla denominada lámina nuclear, situada inmediatamente por debajo de la membrana nuclear interna. Otros tipos de filamentos intermedios se extienden a través del citoplasma, lo que confiere resistencia mecánica a las células. En un tejido epitelial, abarcan el citoplasma de una unión intercelular a otra, lo que fortalece todo el epitelio.

Microfotografías cortesía de Roy Quinlan (i); Nancy L. Kedersha (ii); Mary Osborn (iii); Ueli Aebi (iv).

MICROTÚBULOS







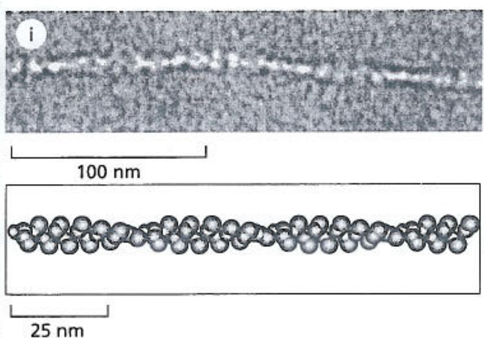


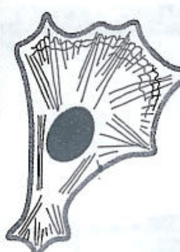


Los microtúbulos son cilindros largos y huecos formados por la proteína tubulina. Tienen un diámetro externo de 25 nm y son más rígidos que los filamentos de actina (abajo). Los microtúbulos son largos y rectos, y uno de sus extremos suele estar unido a un solo centro organizador de microtúbulos (COMT), denominado *centrosoma*.

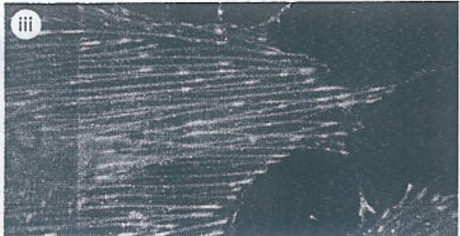
Microfotografías cortesía de Richard Wade (i); D. T. Woodrum y R. W. Linck (ii); David Shima (iii); Arshad Desai (iv).

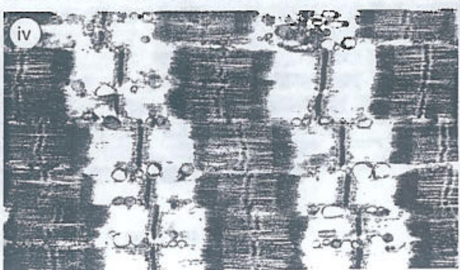
FILAMENTOS DE ACTINA











Los filamentos de actina (también conocidos como *microfilamentos*) son polímeros helicoides bicatenarios de la proteína actina. Se trata de estructuras flexibles de alrededor de 5-9 nm de diámetro, organizados en una variedad de haces lineales, redes bidimensionales y geles tridimensionales. Aunque los filamentos de actina se encuentran dispersos por toda la célula, su máxima concentración corresponde a la *corteza*, inmediatamente por debajo de la membrana plasmática.

Microfotografías cortesía de Roger Craig (i y iv); P. T. Matsudaira y D. R. Burgess, Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 46:845-954, 1982. Con autorización de Cold Sprin Harbor Laboratory Press (ii); Keith Burridge (iii).

Los filamentos intermedios son resistentes y se asemejan a cuerdas

Los filamentos intermedios son comparables a cuerdas formadas por numerosas hebras finas retorcidas que confieren resistencia a la tensión (Película 17-1). Las hebras de esta cuerda, las subunidades de los filamentos intermedios, son proteínas fibrosas alargadas, compuestas por una cabeza globular N-terminal, una cola globular C-terminal y un dominio bastoniforme alargado central (Fig. 17-3A). El dominio bastoniforme central consiste en una región a-helicoidal extendida que permite que pares de proteínas de los filamentos intermedios formen dímeros estables al envolverse uno alrededor del otro en una disposición en espiral (Fig. 17-3B), como se describe en el capítulo 4. Después, se asocian dos de estos dímeros en espiral mediante enlaces no covalentes formando un tetrámero (Fig. 17-3C) y, por último, los tetrámeros se unen entre sí en forma terminoterminal y laterolateral también mediante enlaces no covalentes lo que forma el filamento intermedio cordiforme final (Fig. 17-3D-F).

Todos los dominios bastoniformes centrales de las diferentes proteínas de los filamentos intermedios son similares en tamaño y secuencia de aminoácidos, de modo que, cuando se agrupan, siempre forman filamentos de un diámetro y una

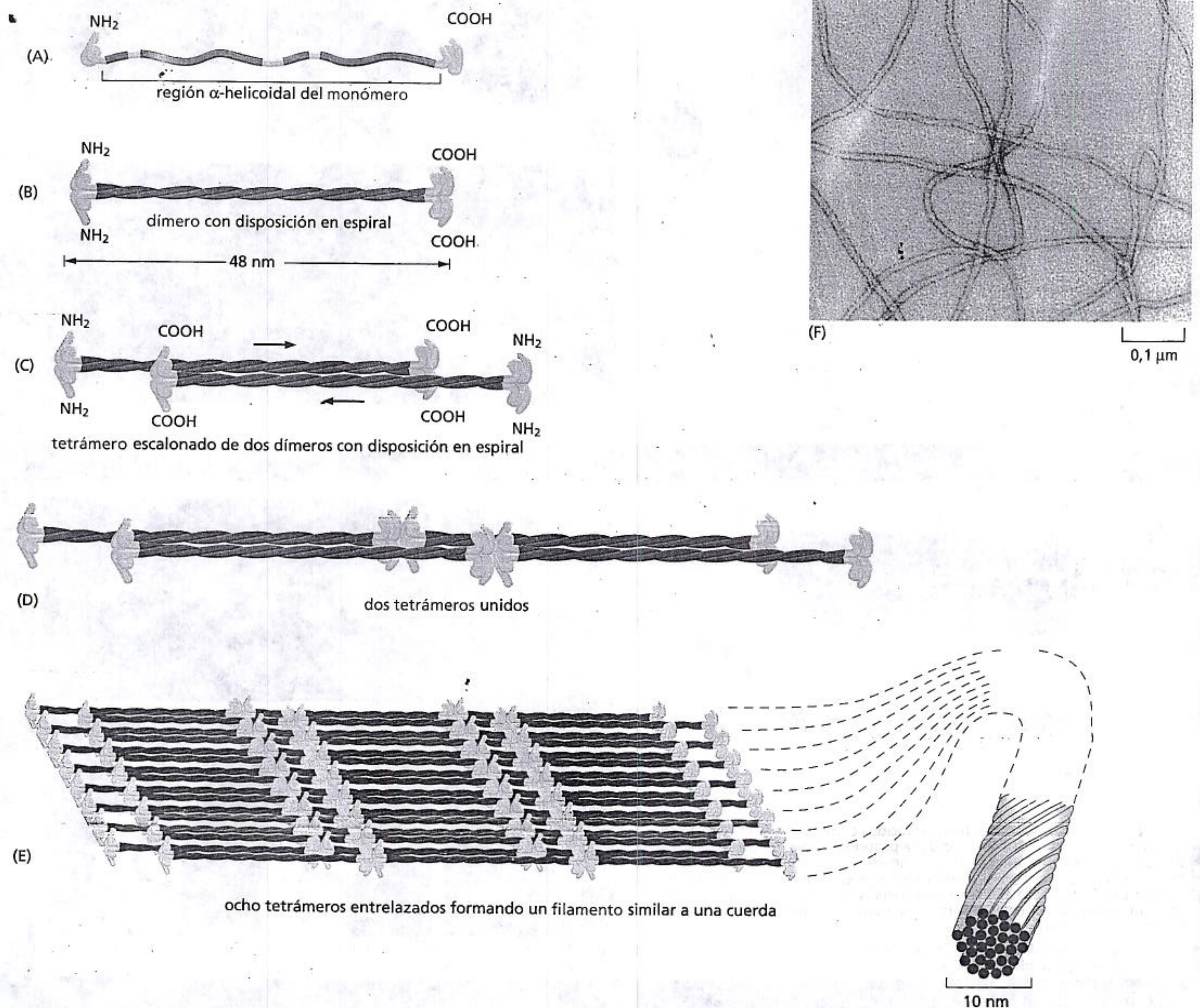


Figura 17-3. Los filamentos intermedios se asemejan a cuerdas formadas por hebras largas y retorcidas de proteína. El monómero proteico del filamento intermedio ilustrado en (A) está compuesto por un dominio bastoniforme central con regiones globulares en cada extremo. Los monómeros se asocian de a pares formando un dímero (B), y después, dos dímeros se alinean formando un tetrámero escalonado (C). Los tetrámeros pueden unirse en forma terminoterminal como se ilustra en (D) y ensamblarse dando lugar a una estructura helicoidal que contiene ocho cadenas de tetrámeros (en la figura, se ilustran extendidos en un plano horizontal para mayor claridad) que se retuercen formando el filamento intermedio cordiforme final (E). (F). Microfotografía electrónica del filamento final de 10 nm. (F, cortesía de Roy Quinlan).

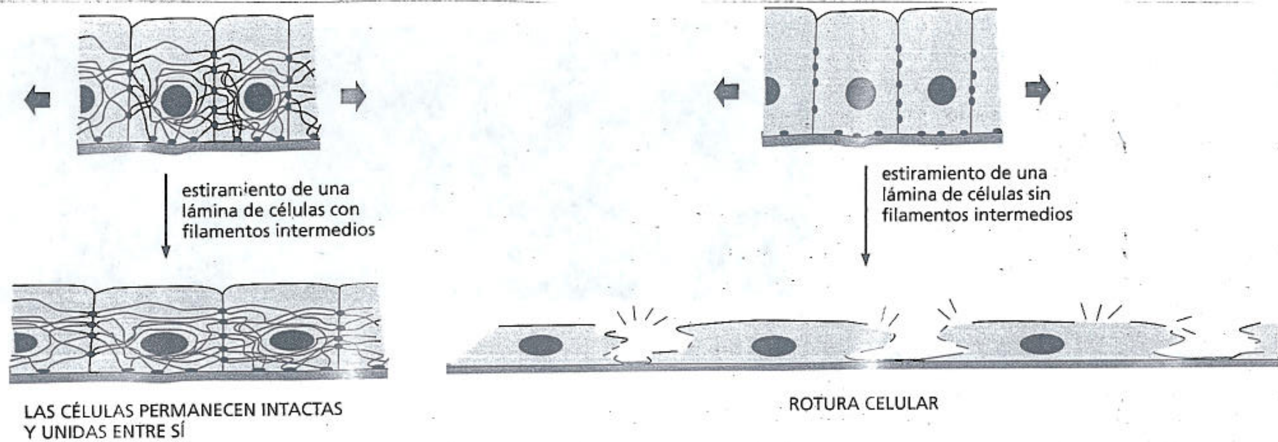


Figura 17-4. Los filamentos intermedios fortalecen las células animales. Si una lámina de células epiteliales es elongada por fuerzas externas (p. ej., secundarias al crecimiento o al movimiento de los tejidos circundantes), la red de filamentos intermedios y uniones desmosómicas que se extienden a través de la lámina se tensan y limitan el grado de estiramiento. Si sólo estuvieran presentes las uniones, esas fuerzas podrían causar una deformación significativa de las células, que incluso podrían romper las membranas plasmáticas.

estructura interna similares. Por el contrario, las cabezas y las colas globulares, que se encuentran expuestas en la superficie del filamento, les permiten interactuar con otros componentes del citoplasma. Los dominios globulares varían mucho en tamaño y secuencia de aminoácidos entre las distintas proteínas de los filamentos intermedios.

Los filamentos intermedios confieren resistencia a las células contra la tensión mecánica

Los filamentos intermedios son particularmente notorios en el citoplasma de células sujetas a fuerzas mecánicas. Por ejemplo, son muy abundantes en los axones de las células nerviosas, lo que les proporciona un refuerzo interno fundamental a estas prolongaciones celulares en extremo largas y finas. También son numerosos en las células musculares y en las células epiteliales, como las de la piel. En todas ellas, los filamentos intermedios, al estirar y distribuir de manera más uniforme el efecto de las fuerzas locales, impide que las células y sus membranas se rompan en respuesta al cizallamiento mecánico (Fig. 17-4). Este principio es análogo al que se aplica en la fabricación de materiales compuestos, como fibra de vidrio u hormigón, en los que los elementos lineales que soportan la tensión, como fibras de carbono (en la fibra de vidrio) o barras de acero (en el hormigón), están incluidos en una matriz espacial para conferir resistencia al material.

Los filamentos intermedios se pueden agrupar en cuatro clases: (1) *filamentos de queratina* de las células epiteliales; (2) *filamentos de vimentina* y *relacionados con vimentina* de las células del tejido conectivo, las células musculares y las células de sostén del sistema nervioso (neuroglia); (3) *neurofilamentos* de las células nerviosas; y (4) *láminas nucleares*, que fortalecen la membrana nuclear de todas las células animales (Fig. 17-5). Los primeros tres tipos de filamentos se localizan en el citoplasma; el cuarto, en el núcleo celular. Los filamentos de cada clase están formados por polimerización de sus correspondientes subunidades proteicas.

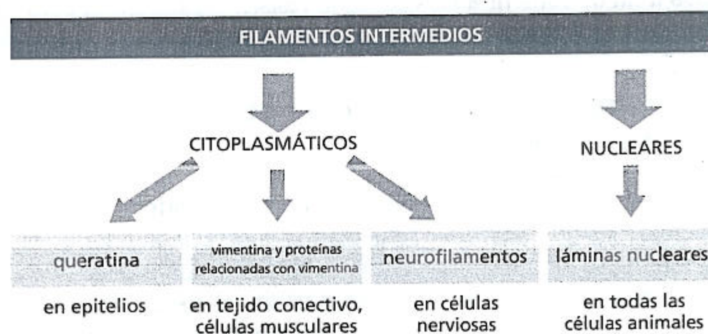


Figura 17-5. Los filamentos intermedios se pueden dividir en varias categorías diferentes.

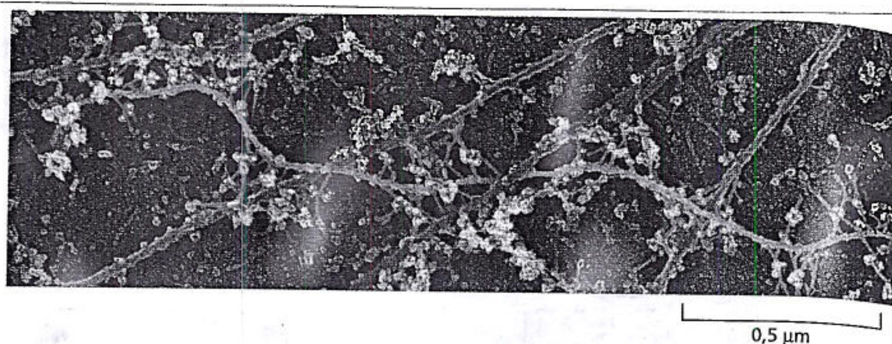


Figura 17-6. La plectina contribuye a la disposición en haces de los filamentos intermedios y los conecta con otras redes de proteínas citoesqueléticas. La plectina (*verde*) conecta a los filamentos intermedios (*azul*) con otros filamentos intermedios, con microtúbulos (*rojo*) y con filamentos de actina (no ilustrados). En esta microfotografía electrónica, los *puntos amarillos* son partículas de oro unidas a anticuerpos que reconocen la plectina. Se ha eliminado la red de filamentos de actina para poder apreciar mejor estas uniones proteicas. (De T. M. Svitkina y G. G. Borisy, *J. Cell Biol.*, 135:991-1007, 1996. Con autorización de The Rockefeller University Press).

La clase de filamentos intermedios más diversa es la de las queratinas. Cada clase de epitelio del cuerpo de los vertebrados –ya sea la lengua, la córnea o el revestimiento intestinal– tiene su propia combinación distintiva de queratinas. También se observan queratinas especializadas en el pelo, las plumas y las garras de los animales. En cada uno de estos casos, los filamentos están compuestos por una combinación de diferentes subunidades de queratina. Por lo general, los filamentos de queratina se extienden por el interior de las células epiteliales de un extremo al extremo opuesto, y los filamentos presentes de las células epiteliales adyacentes se conectan indirectamente mediante uniones intercelulares denominadas *desmosomas* (véase lámina 17-1, p. 573). Los extremos de los filamentos de queratina están anclados a los desmosomas y se asocian lateralmente con otros componentes celulares por sus dominios globulares de la cabeza y la cola, que sobresalen de la superficie del filamento ensamblado. Este cableado de gran resistencia a la tensión, formado por los filamentos de toda la hoja epitelial, distribuye la tensión generada por el estiramiento de la piel. La importancia de esta función es ilustrada por la rara enfermedad genética humana llamada *epidermólisis ampollar simple*, en la que mutaciones de los genes de la queratina interfieren con la formación de filamentos de queratina en la epidermis. En consecuencia, la piel es sumamente vulnerable a las lesiones mecánicas e incluso una compresión leve puede provocar la rotura de las células y la formación de ampollas.

Muchos de los filamentos intermedios son estabilizados y reforzados aun más por proteínas accesorias, por ejemplo plectina, que forman uniones cruzadas entre los haces de filamentos formando una estructura resistente. Además de mantener juntos los haces de filamentos intermedios (en particular, de vimentina), estas proteínas unen los filamentos intermedios a los microtúbulos, a los filamentos de actina y a estructuras adherentes de los desmosomas (Fig. 17-6). Las mutaciones del gen de plectina provocan una enfermedad humana devastadora que combina características de la epidermólisis ampollar simple (causada por rotura de la queratina cutánea), distrofia muscular (causada por alteraciones de los filamentos intermedios del músculo) y degeneración nerviosa (por alteración de los neurofilamentos). Los ratones que carecen de un gen de plectina funcional mueren a los pocos días de nacer con la piel ampollada y anomalías de los músculos esquelético y cardíaco. Así, aunque la plectina puede no ser indispensable para la formación inicial de los filamentos intermedios, se requiere su acción para formar enlaces cruzados a fin de conferir a las células la resistencia necesaria para tolerar las fuerzas mecánicas inherentes a la vida de los vertebrados.

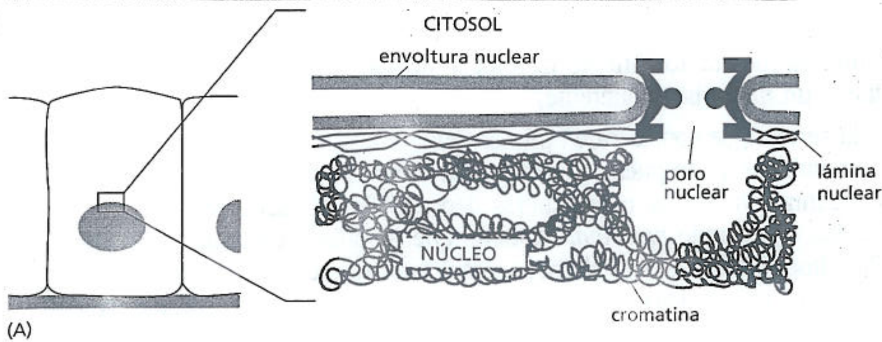
PREGUNTA 17-1

¿Cuáles de los siguientes tipos de células podrían contener una densidad elevada de filamento intermedios en el citoplasma? Fundamente la respuesta.

A. *Amoeba proteus* (una ameba de vida libre).
B. Una célula epitelial de la piel.
C. Una célula muscular lisa del tracto digestivo.
D. *Escherichia coli*.
E. Una célula nerviosa de la médula espinal.
F. Un espermatozoide.
G. Una célula vegetal.

La envoltura nuclear está sostenida por una red de filamentos intermedios

Mientras que los filamentos intermedios del citoplasma forman estructuras semejantes a cuerdas, los que tapizan y refuerzan la superficie interior de la membrana nuclear interna se organizan como una red bidimensional (Fig. 17-7). Los filamentos intermedios dentro de esta **lámina nuclear** resistente están formados por una clase de proteínas llamadas *laminas* (que no deben ser confundidas con la *laminina*, una proteína de la matriz extracelular). A diferencia de los filamentos



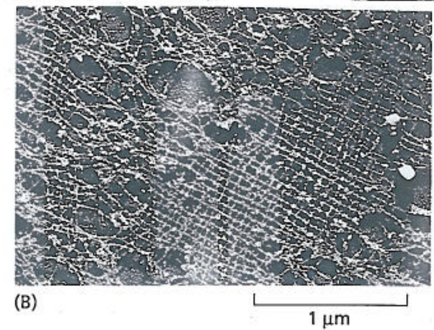


Figura 17-7. **Los filamentos intermedios sostienen y fortalecen la envoltura nuclear.** (A) Esquema de un corte transversal de la envoltura nuclear. Los filamentos intermedios de la lámina nuclear tapizan la cara interna de la envoltura nuclear y se considera que suministran sitios de unión para la cromatina que contiene DNA. (B) Microfotografía electrónica de una parte de lámina nuclear de un oocito de rana. La lámina está compuesta por un retículo cuadrangular de filamentos intermedios formado por laminas. (Las láminas nucleares de otros tipos de células no siempre presentan una disposición tan regular como la ilustrada en la figura). (B, cortesía de Ueli Aebi).

intermedios citoplasmáticos sumamente estables que se hallan en muchas células, los de la lámina nuclear se desensamblan y se vuelven a formar en cada división celular, cuando la envoltura nuclear se rompe durante la mitosis y, después, se regenera en cada una de las células hijas (véase capítulo 18).

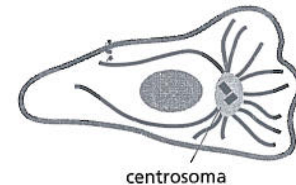
El desensamblaje y reensamblaje de la lámina nuclear son controlados por la fosforilación y la desfosforilación (véase capítulo 4) de las laminas por proteincinasas. La fosforilación de las laminas induce un cambio conformacional que debilita la unión entre los tetrámeros y separa el filamento. La desfosforilación al final de la mitosis determina que las laminas vuelvan a ensamblarse (véase Fig. 18-31).

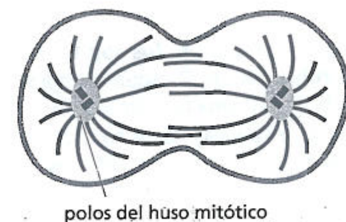
Los defectos de una determinada lamina nuclear se asocian con ciertos tipos de *progeria*, trastornos raros que hacen que los individuos afectados presenten envejecimiento prematuro. Los niños con progeria tienen piel arrugada, pierden los dientes y el cabello, y a menudo, tienen enfermedad cardiovascular grave cuando alcanzan la adolescencia. Aunque los investigadores todavía no saben cómo causa estos síntomas la pérdida de las laminas nucleares, algunos han sugerido que la inestabilidad nuclear resultante podría inducir alteraciones de la división celular o menor capacidad de reparación tisular.

MICROTÚBULOS

Los **microtúbulos** desempeñan un papel crucial en la organización de todas las células eucariontes. Se trata de tubos proteicos huecos, largos y relativamente rígidos, que tienen la capacidad de desensamblarse con rapidez en un sitio y ensamblarse de nuevo en otro. En una célula animal típica, los microtúbulos se originan en una estructura pequeña localizada cerca del centro de la célula, denominada *centrosoma* (Fig. 17-8A). Los microtúbulos se extienden hacia la periferia celular formando un sistema de guías intracelulares a lo largo de las cuales se desplazan vesículas, orgánulos y otros componentes celulares. Éste y otros sistemas de microtúbulos citoplasmáticos constituyen la fracción del citoesqueleto principalmente responsable de anclar los orgánulos delimitados por membranas dentro de la célula y guiar el transporte intracelular.

Cuando una célula entra en mitosis, los microtúbulos citoplasmáticos se desensamblan y, luego, se reensamblan en una estructura compleja llamada *huso mitótico*. Como se describe en el capítulo 18, el huso mitótico aporta la maquinaria que permitirá la segregación equitativa de los cromosomas en las dos células hijas inmediatamente antes de la división celular (Fig. 17-8B). Los microtúbulos también pueden formar estructuras permanentes, como ejemplifican las estructuras piliformes de movimientos rítmicos conocidas como *cilios* y *flagelos* (Fig. 17-8C). Éstos se extienden desde la superficie de numerosas células eucariontes, donde actúan como medios de propulsión o despejando el fluido presente sobre la superficie celular. La parte central de un cilio o flagelo eucarionte está constituida por





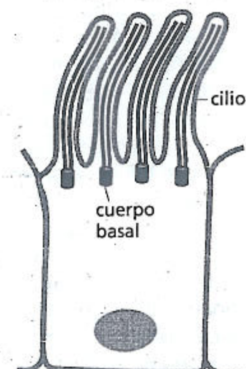


Figura 17-8. Los microtúbulos suelen crecer a partir de una estructura organizadora. A diferencia de los filamentos intermedios, los microtúbulos (*verde oscuro*) se extienden desde un centro organizador que puede ser un centrosoma (A), un polo mitótico (B) o el cuerpo basal de un cilio (C).

un haz muy organizado y estable de microtúbulos. (Los flagelos bacterianos tienen una estructura totalmente distinta y actúan como elementos propulsores mediante un mecanismo diferente).

En esta sección, se considera en primer término la estructura y el ensamblaje de los microtúbulos y, después, su papel en la organización del citoplasma. La función organizativa de los microtúbulos depende de su asociación con proteínas accesorias, sobre todo *proteínas motoras* que propulsan orgánulos a lo largo de carriles citoesqueléticos. Por último, se analiza la estructura y la función de cilios y flagelos, en los que los microtúbulos están permanentemente asociados con proteínas motoras que generan el movimiento ciliar.

Los microtúbulos son tubos huecos con extremos estructuralmente distintos

Los microtúbulos están formados por subunidades –moléculas de **tubulina**– cada una de las cuales es un dímero compuesto por dos proteínas globulares muy semejantes denominadas α-tubulina y β-tubulina, estrechamente unidas por enlaces no covalentes. Los dímeros de tubulina se apilan, unidos también por enlaces no covalentes, formando la pared del microtúbulo cilíndrico hueco. Esta estructura tubular está compuesta por 13 *protofilamentos* paralelos, formado cada uno por una cadena lineal de dímeros de tubulina en la que alternan tubulinas α y β (Fig. 17-9). Cada protofilamento tiene una polaridad estructural, con la α-tubulina expuesta en un extremo y la β-tubulina en el otro, y esta **polaridad** –la dirección intrínseca de la estructura– es la misma en todos los protofilamentos, lo que confiere una polaridad estructural al microtúbulo en su totalidad. Uno de los extremos del microtúbulo, presuntamente el correspondiente a la β-tubulina, se denomina *extremo +*, mientras que el extremo opuesto, correspondiente a la α-tubulina, *extremo –*.

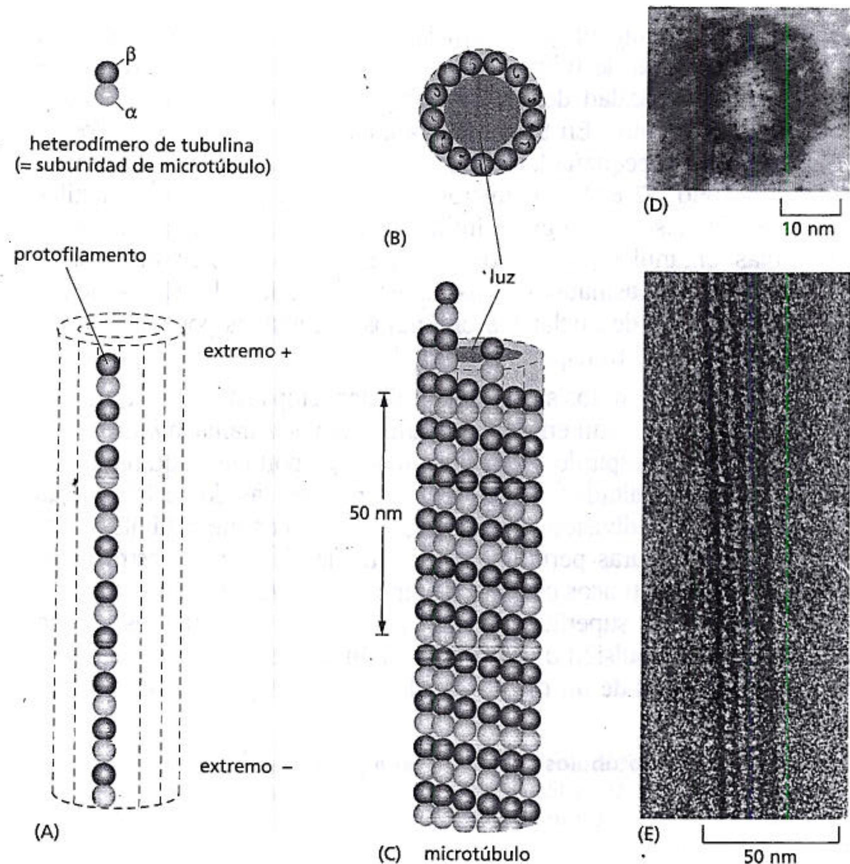


Figura 17-9. Los microtúbulos son tubos huecos de tubulina. (A) El esquema muestra una molécula de tubulina (un dímero αβ) y un protofilamento, y su localización en la pared del microtúbulo. Obsérvese que todas las moléculas de tubulina de los protofilamentos están orientadas en la misma dirección, lo que le confiere al microtúbulo una polaridad estructural definida. (B y C). Esquema de un microtúbulo que revela la agrupación de las moléculas de tubulina en la pared del microtúbulo. En la parte superior, se muestra un corte transversal de 13 moléculas. Más abajo, se observa una vista lateral de una fracción corta del microtúbulo en la que se aprecia la alineación de las moléculas de tubulina en protofilamentos lineales. (D). Corte transversal de un microtúbulo con su anillo de 13 subunidades distintas, cada una de las cuales se corresponde con un dímero de tubulina distinto. (E). Vista longitudinal de un microtúbulo con un microscopio electrónico. (D, cortesía de Richard Linck; E, cortesía de Richard Wade).

En una solución concentrada de tubulina pura in vitro, los dímeros de tubulina se suman a uno u otro extremo de un microtúbulo en crecimiento, aunque se añaden con más rapidez al extremo + que al extremo menos (lo que explica su denominación original). La polaridad del microtúbulo –el hecho de que su estructura tenga una dirección definida, con dos extremos químicamente diferentes y de comportamiento distinto– es crucial tanto para su ensamblaje como para su función una vez formados. Si no tuvieran polaridad, no podrían cumplir su función de, por ejemplo, definir una dirección en el transporte intracelular.

El centrosoma es el principal centro organizador de microtúbulos en las células animales

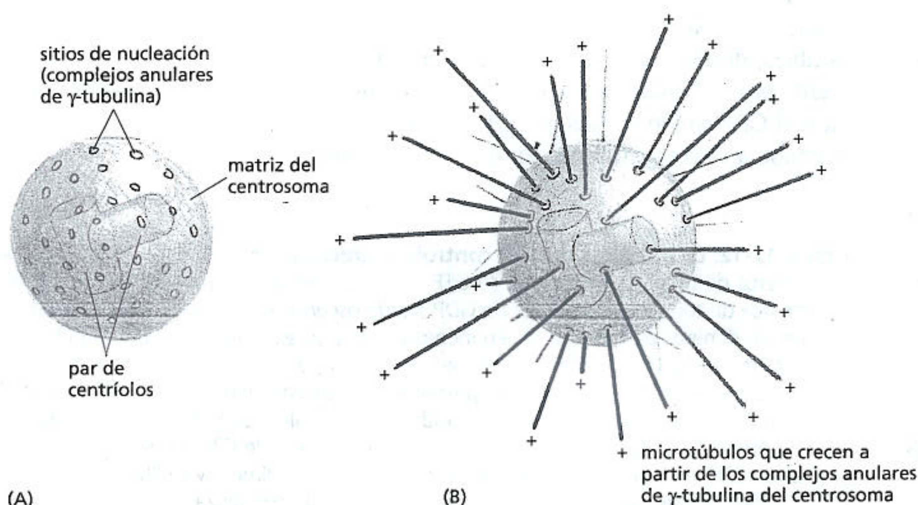
Los microtúbulos de las células derivan de centros organizadores especializados que controlan el número de microtúbulos formados; su localización y su orientación en el citoplasma. Por ejemplo, en las células animales, el **centrosoma**, que suele estar cerca del núcleo cuando la célula no está en mitosis, organiza la disposición de microtúbulos que irradian hacia fuera de éste a través del citoplasma (véase Fig. 17-8A). Los centrosomas contienen cientos de estructuras anulares formadas por otro tipo de tubulina, la γ-tubulina, y cada anillo de γ-tubulina es el punto de partida, o *sitio de nucleación*, para el crecimiento del microtúbulo (Fig. 17-10A). Los dímeros de αβ-tubulina se agregan al anillo de γ-tubulina con una orientación específica, lo que determina que el extremo - de cada microtúbulo quede incluido en el centrosoma y que el crecimiento tenga lugar sólo en el extremo más, es decir, en el extremo orientado hacia afuera (Fig. 17-10B).

PREGUNTA 17-2

¿Por qué supone que es mucho más fácil añadir tubulina a los microtúbulos preexistentes que comenzar la construcción de un nuevo microtúbulo a partir de cero? Explique la forma en la que la γ-tubulina presente en el centrosoma ayuda a superar este obstáculo.

Además de sus anillos de γ-tubulina, el centrosoma de la mayoría de las células animales también contiene un par de **centríolos**, estructuras peculiares constituidas por microtúbulos cortos de disposición cilíndrica. Los centríolos no cumplen ningún papel en la nucleación de los microtúbulos en el centrosoma (los anillos de γ-tubulina son suficientes por sí solos), y su función no se conoce con certeza, en especial porque las células vegetales carecen de ellos. Sin embargo, los centríolos son similares, si no idénticos, a los *cuerpos basales* que forman los centros organizadores de los microtúbulos en los cilios y flagelos (véase Fig. 17-18C), como se verá más adelante en este capítulo.

Los microtúbulos necesitan sitios de nucleación como los provistos por los anillos de γ-tubulina del centrosoma, ya que es mucho más difícil la formación de un nuevo microtúbulo desde cero, mediante el ensamblaje inicial de un anillo de dímeros de αβ-tubulina, que añadir estos dímeros a una estructura microtubular preexistente. La αβ-tubulina libre purificada se puede polimerizar en forma espontánea in vitro cuando se encuentra en alta concentración, pero la concentración de αβ-tubulina libre de las células vivas es demasiado baja como para promover



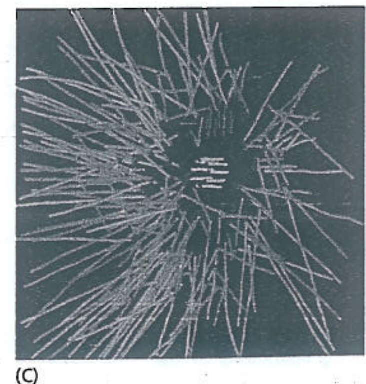


Figura 17-10. La tubulina se polimeriza a partir de sitios de nucleación de un centrosoma. (A) Este esquema muestra que un centrosoma está formado por una matriz proteica amorfa que contiene los anillos de γ-tubulina que nuclean el crecimiento de los microtúbulos. En las células animales, el centrosoma contiene un par de centríolos, compuestos por microtúbulos cortos dispuestos en forma cilíndrica. (B) Centrosoma con microtúbulos asociados. El extremo menos de cada microtúbulo está incluido en el centrosoma, mientras que el extremo más se encuentra libre en el citoplasma. (C) La imagen reconstituida muestra un denso conjunto de microtúbulos que emanan del centrosoma de una célula de *C. elegans*. (C, de E. T. O'Toole et al., *J. Cell Biol.* 163:451-456, 2003. Con autorización de The Rockefeller University Press).

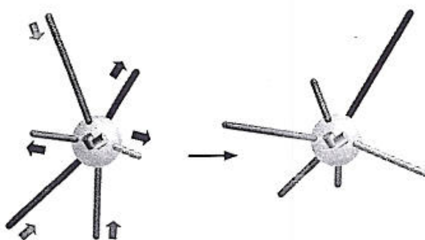


Figura 17-11. Cada filamento del microtúbulo crece o se retrae independientemente de sus vecinos. La disposición de los microtúbulos unidos a un centrosoma se modifica continuamente a medida que crecen nuevos microtúbulos *(flechas rojas)* y se retraen los microtúbulos preexistentes *(flechas azules)*.

el primer paso difícil del ensamblaje del anillo inicial de un nuevo microtúbulo. Al suministrar centros organizadores que contienen sitios de nucleación y mantener baja la concentración de dímeros de αβ-tubulina, las células pueden controlar dónde se forman los microtúbulos.

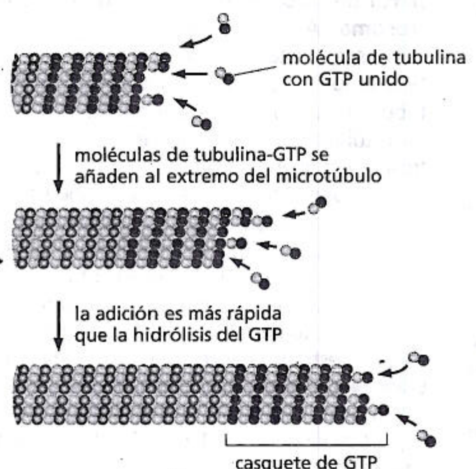
Los microtúbulos en crecimiento presentan inestabilidad dinámica

Una vez producida la nucleación de un microtúbulo, su extremo más suele crecer hacia afuera del centro organizador por adición de subunidades de αβ-tubulina durante varios minutos. Luego, el microtúbulo sufre una transición brusca que hace que se retraiga con rapidez hacia adentro por pérdida de subunidades en su extremo libre (**Película 17.2**). En algunos casos, se retrae parcialmente y vuelve a crecer también en forma súbita, o puede desaparecer por completo y ser reemplazado por un nuevo microtúbulo derivado del mismo anillo de γ-tubulina (**Fig. 17-11**).

Este comportamiento singular, conocido como **inestabilidad dinámica**, deriva de la capacidad intrínseca de las moléculas de tubulina de hidrolizar GTP. Cada dímero de tubulina libre contiene una molécula de GTP estrechamente unida que es hidrolizada a GDP (aún firmemente unida) poco después de la adición de la subunidad a un microtúbulo en crecimiento. Las moléculas de tubulina asociadas a GTP se agrupan de manera eficiente, mientras que las moléculas de tubulina portadoras de GDP tienen una conformación distinta y se unen más laxamente entre sí.

Cuando la polimerización se produce con rapidez, las moléculas de tubulina se agregan al extremo del microtúbulo más rápido de lo que se hidroliza el GTP que contienen. Por lo tanto, el extremo de un microtúbulo en crecimiento está compuesto íntegramente por subunidades de GTP-tubulina, que forman lo que se conoce como *casquete de GTP*. En esta situación, el microtúbulo en crecimiento continuará creciendo (**Fig. 17-12A**). Sin embargo, dada la aleatoriedad de los procesos químicos, a veces la tubulina del extremo libre del microtúbulo hidroliza su GTP antes de que se añada la siguiente tubulina, de manera que los extremos libres de los protofilamentos están compuestos, ahora, por subunidades de GDP-tubulina. Esto inclina la balanza en favor del desensamblaje (Fig. 17-12B). Como el resto del microtúbulo está compuesto por GDP-tubulina, una vez que se ha iniciado la despolarización, ésta tiende a continuar, a menudo a una gran velocidad; el microtúbulo comienza a contraerse con rapidez e, incluso, puede desaparecer.

Las moléculas de tubulina que contienen GDP liberadas a medida que el microtúbulo se despolimeriza se unen a las moléculas de tubulina no polimerizadas ya presentes en el citosol. Por ejemplo, en cualquier momento de la vida de un fibroblasto típico, alrededor de la mitad de la tubulina celular se encuentra en los microtúbulos, mientras que el resto permanece libre en el citosol, donde forma un depósito de subunidades disponibles para el crecimiento de los microtúbulos. Esta situación es bastante diferente de la observada en los filamentos intermedios más estables, donde las subunidades suelen estar casi por completo en la forma totalmente ensamblada. Las moléculas de tubulina que se unen al depósito intercambian el GDP unido a ellas por GTP, lo que les permite volver a ser competentes y sumarse a otro microtúbulo en fase de crecimiento.



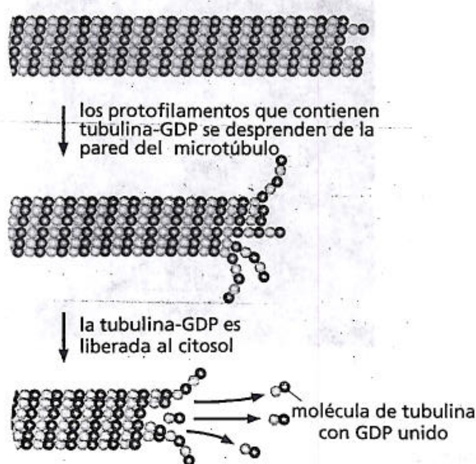


Figura 17-12. La hidrólisis de GTP controla el crecimiento de los microtúbulos. (A) Los dímeros de tubulina portadores de GTP *(rojo)* se unen más firmemente entre sí que los dímeros de tubulina portadores de GDP *(verde oscuro)*. Por lo tanto, los microtúbulos que tienen dímeros de tubulina recién incorporados a su extremo con GTP unido tienden a seguir creciendo. (B) Sin embargo, de vez en cuando, en especial si el crecimiento del microtúbulo es lento, las subunidades presentes en este casquete de GTP hidrolizarán el GTP a GDP antes de que las nuevas subunidades de tubulina cargadas con GTP hayan tenido tiempo de unirse. Por lo tanto, se pierde el casquete de GTP; las subunidades que contienen GDP no están tan estrechamente unidas en el polímero y se liberan con mayor facilidad del extremo libre, de manera que el microtúbulo comienza a retraerse en forma continua (Película 17.3 y 17.4).

Los microtúbulos se mantienen por un equilibrio entre el ensamblaje y el desensamblaje

La inestabilidad relativa de los microtúbulos les permite presentar un remodelado rápido, y esta característica es crucial para su función. En una célula normal, el centrosoma (u otro centro organizador) proyecta continuamente nuevos microtúbulos exploradores en diferentes direcciones y, luego, los retrae. Sin embargo, es posible evitar que un microtúbulo que crece a partir de un centrosoma se desensamble si su extremo más es estabilizado de manera permanente por unión a otra molécula o estructura celular, de manera de evitar la despolimerización de la tubulina. Si es estabilizado por unión a una estructura en una región más distante de la célula, el microtúbulo establecerá una unión relativamente estable entre esa estructura y el centrosoma (Fig. 17-13). Se puede comparar al centrosoma con un pescador que arroja una línea: si no hay pique en el extremo de la línea, ésta es recogida con rapidez y se la vuelve a arrojar; pero si un pez muerde el anzuelo, la línea permanece en su sitio y conecta al pez con el pescador. Esta estrategia simple de exploración aleatoria y estabilización selectiva permite que el centrosoma y otros centros de nucleación monten un sistema muy organizado de microtúbulos que vinculan determinadas partes de la célula. Asimismo, posiciona los orgánulos entre sí.

Los fármacos que impiden la polimerización o la despolimerización de la tubulina pueden ejercer un efecto rápido y profundo en la organización del citoesqueleto y en el comportamiento de la célula. Considérese el huso mitótico, el marco de microtúbulos que guía a los cromosomas durante la mitosis (véase Fig. 17-8B). Si una célula en mitosis es expuesta al fármaco *colchicina,* que se une firmemente a la tubulina libre e impide su polimerización en microtúbulos, el huso mitótico desaparece con rapidez, y la célula se atasca en el medio de la mitosis, lo que impide que segregue sus cromosomas en dos grupos. Esto muestra que, en condiciones normales, el huso mitótico se mantiene por un equilibrio constante entre la adición y la pérdida de subunidades de tubulina: cuando la adición de tubulina es bloqueada por la colchicina, la pérdida continua de tubulina sigue hasta que desaparece el huso.

El fármaco *taxol* ejerce el efecto opuesto en el nivel molecular, ya que se une estrechamente a los microtúbulos e impide que pierdan subunidades. Como, aun así, se pueden seguir agregando nuevas subunidades, los microtúbulos pueden crecer, pero no pueden retraerse. Sin embargo, pese a las diferencias en el nivel molecular, el taxol tiene el mismo efecto global sobre la célula que la colchicina: también detiene la mitosis de la célula en división. Esto indica que, para que el huso funcione, los microtúbulos no sólo deben ser capaces de ensamblarse, sino también de desensamblarse. El comportamiento del huso mitótico se analiza con más detalle en el capítulo 18, cuando se considera la mitosis.

La desactivación del huso mitótico destruye finalmente a las células en división. Las células cancerosas, que se dividen con menos control que la mayoría de las otras células del organismo, a veces pueden ser destruidas preferencialmente por *fármacos antimitóticos* estabilizadores y desestabilizadores de los microtúbulos. Así, los fármacos que interfieren con la polimerización o con la despolimerización, como colchicina, taxol, vincristina y vinblastina, se utilizan en el tratamiento clí-

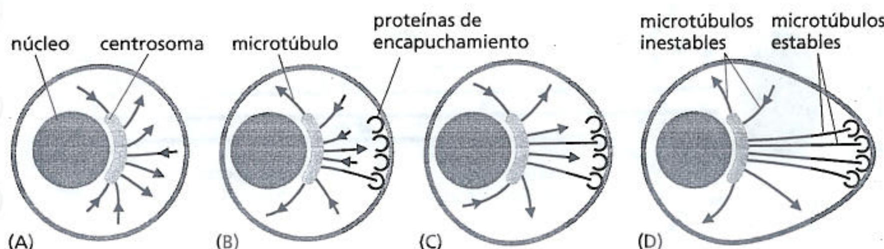


Figura 17-13. La estabilización selectiva de los microtúbulos puede polarizar una célula. Un microtúbulo recién formado persistirá sólo si sus dos extremos están protegidos contra la despolimerización. En las células, los extremos menos de los microtúbulos suelen estar protegidos por los centros organizadores a partir de los que crecen estos filamentos. Los extremos más al principio están libres, pero pueden ser estabilizados por otras proteínas. Aquí, por ejemplo, se ilustra una célula no polarizada en (A) con nuevos microtúbulos que crecen y se retraen aleatoriamente en muchas direcciones desde un centrosoma. Algunos de estos microtúbulos se encuentran, por azar, con proteínas (proteínas de encapuchamiento) en una región específica de la corteza celular, que pueden unirse a los extremos más libres de los microtúbulos y estabilizarlos (B). Esta estabilización selectiva determinará una rápida reorientación de la disposición de los microtúbulos (C) y convertirá a la célula en una forma muy polarizada (D).

CUADRO 17-1 FÁRMACOS QUE AFECTAN LOS FILAMENTOS Y LOS MICROTÚBULOS

	Acción
Fármacos específicos de microtúbulos	
Taxol	se une y estabiliza los microtúbulos
Colchicina, colcemid	se une a las subunidades e impide la polimerización
Vinblastina, vincristina	se une a las subunidades e impide la polimerización
Fármacos específicos de actina	
Faloidina	se une y estabiliza los filamentos
Citocalasina	recubre los extremos más del filamento
Latrunculina	se une a las subunidades e impide la polimerización

nico del cáncer. Como se comenta sucintamente, también hay compuestos que estabilizan y desestabilizan los filamentos de actina. En conjunto, estos fármacos, enumerados en el cuadro 17-1, permiten que los biólogos estudien la función del citoesqueleto.

Los microtúbulos organizan el interior de la célula

Las células tienen la capacidad de modificar la estabilidad dinámica de los microtúbulos con fines particulares. Por ejemplo, cuando la célula entra en la mitosis, los microtúbulos se vuelven al principio más dinámicos y alternan entre el crecimiento y la retracción con más frecuencia de lo que lo hacen los microtúbulos citoplasmáticos. Esto les permite desensamblarse con rapidez y luego reensamblarse en el huso mitótico. Por otra parte, cuando una célula se ha diferenciado en un tipo celular especializado y ha adoptado una estructura fija definida, la inestabilidad dinámica de sus microtúbulos suele ser suprimida por proteínas que se unen a sus extremos o a lo largo de ellos y los estabilizan evitando el desensamblaje. Los microtúbulos estabilizados contribuyen a mantener la organización celular.

La mayoría de las células animales diferenciadas están *polarizadas*; es decir, un extremo difiere estructural o funcionalmente del otro. Por ejemplo, las células nerviosas tienen un axón en un extremo y dendritas en el otro; las células especializadas en secreción tienen el complejo de Golgi orientado hacia el sitio de secreción, etc. La polaridad celular es un reflejo de los sistemas de microtúbulos polarizados de su interior, que contribuyen a posicionar los orgánulos en la localización requerida y a guiar las corrientes de tráfico entre una región de la célula y otra. Por ejemplo, en la célula nerviosa, todos los microtúbulos del axón apuntan en la misma dirección, con sus extremos más orientados hacia la terminación axónica (Fig. 17-14). A lo largo de estos carriles orientados, la célula puede enviar materiales, como vesículas de membrana y proteínas secretoras, que son elaborados en el cuerpo celular pero se requieren en el extremo más alejado del axón.

Algunos de estos materiales se desplazan con una velocidad mayor de 10 cm por día, lo que significa que pueden tardar una semana o más en llegar al extremo de un axón largo en los animales de mayor tamaño. No obstante, el desplazamien-

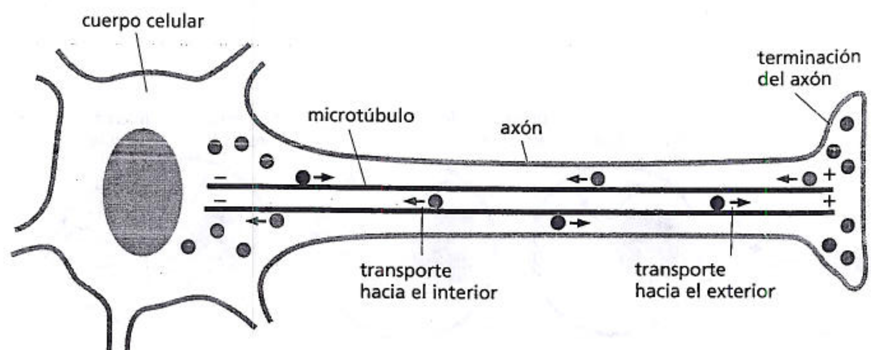


Figura 17-14. Los microtúbulos transportan carga a lo largo del axón de las células nerviosas. En las células nerviosas, todos los microtúbulos del axón apuntan en la misma dirección, con sus extremos más dirigidos hacia la terminación axónica. Los microtúbulos orientados son como carriles para el transporte direccional de materiales sintetizados en el cuerpo celular, pero necesarios en la terminación del axón (p. ej., proteínas de membrana requeridas en el crecimiento). En el caso de un axón que se dirige desde la médula espinal hasta un músculo del hombro, este recorrido demanda alrededor de dos días. Además de este tráfico externo de material (círculos *rojos*) impulsado por un conjunto de proteínas motoras, hay tráfico interno en la dirección opuesta (círculos *azules*), estimulada por otro conjunto de proteínas motoras. El tráfico interno transporta hacia el cuerpo celular materiales ingeridos por el extremo del axón o producidos por la degradación de proteínas y otras moléculas.

to a lo largo de los microtúbulos es mucho más veloz y eficiente que la di- fusión libre. Una molécula proteica que se desplaza por difusión libre tardaría años en alcanzar el extremo de un axón largo, en el caso de que llegara (véase la pregunta 17-12).

Es importante tener presente que los microtúbulos de las células vivas no actúan solos. Al igual que en el caso de otros filamentos del citoesqueleto, su actividad depende de una gran diversidad de proteínas accesorias que se unen a ellos. Por ejemplo, algunas proteínas asociadas a los microtúbulos los estabilizan e impiden su desensamblado, mientras que otras proteínas unen los microtúbulos a otros componentes celulares, incluidos los otros tipos de filamentos citoesqueléticos. Otras proteínas asociadas a microtúbulos son proteínas motoras que transportan orgánulos, vesículas y otros materiales celulares a lo largo de los microtúbulos. Como los componentes del citoesqueleto pueden interactuar entre sí, es posible coordinar sus funciones.

PREGUNTA 17-3

La inestabilidad dinámica determina que los microtúbulos crezcan o se retraigan con rapidez. Considere un microtúbulo individual que se encuentre en su fase de retracción.

A. ¿Qué debe suceder en el extremo del microtúbulo para que deje de retraerse y comience a crecer?

B. ¿Cómo afectaría a este cambio una modificación de la concentración de tubulina?

C. ¿Qué ocurriría si la solución contuviera GDP, pero no GTP?

D. ¿Qué ocurriría si la solución contuviera un análogo del GTP que no pudiera ser hidrolizado?

Las proteínas motoras impulsan el transporte intracelular

Si se examina una célula viva con el microscopio óptico, se observa que el citoplasma se encuentra en constante movimiento (Fig. 17-15). Las mitocondrias, y los orgánulos rodeados de membrana de menor tamaño y las vesículas se desplazan con movimientos espasmódicos rápidos; es decir, se mueven durante un breve lapso, se detienen y, después comienzan otra vez. Este *movimiento saltatorio* es mucho más direccional y sostenido que los pequeños movimientos brownianos continuos causados por la acción térmica aleatoria. Tanto los microtúbulos como los filamentos de actina participan de los movimientos saltatorios y de otros movimientos intracelulares dirigidos en las células eucariontes. En ambos casos, los movimientos son generados por **proteínas motoras**, que utilizan la energía derivada de ciclos repetidos de hidrólisis del ATP y viajan sostenidamente a lo largo del filamento de actina o del microtúbulo en una sola dirección (véase Fig. 4-42). Al mismo tiempo, estas proteínas motoras también se unen a otros componentes celulares y, así transportan esta carga a lo largo de los filamentos. Se han identificado docenas de proteínas motoras, que se diferencian entre sí por el tipo de filamento al que se unen, la dirección que siguen a lo largo del filamento y la carga que transportan.

Las proteínas motoras que se desplazan a lo largo de los microtúbulos citoplasmáticos, como las del axón de una célula nerviosa, pertenecen a dos familias: las **cinesinas**, que se suelen desplazar hacia el extremo más de un microtúbulo (alejándose del centrosoma; hacia afuera del cuerpo celular en la Fig. 17-14), y las **dineínas**, que se desplazan hacia el extremo menos del microtúbulo (hacia el centrosoma; hacia adentro en la Fig. 17-15). Tanto las cinesinas como las dineínas son dímeros con dos cabezas globulares que se unen a ATP y una sola cola (Fig. 17-16A). Las cabezas interactúan con los microtúbulos en forma estereoespecífi-

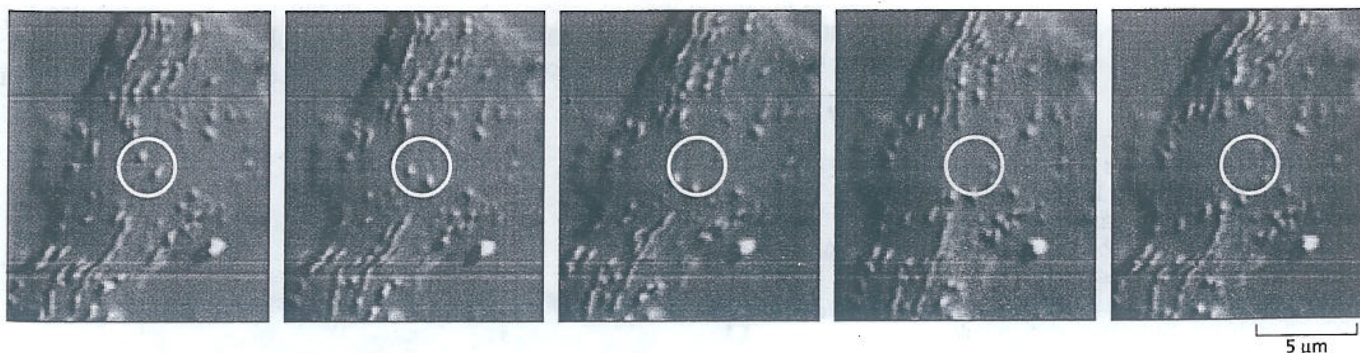


Figura 17-15. Los orgánulos se desplazan a lo largo de microtúbulos a distintas velocidades. En esta serie de imágenes videointensificadas de una región aplanada de una célula nerviosa de invertebrado, se pueden observar numerosas vesículas de membrana y mitocondrias, muchas de ellas en movimiento. El círculo blanco representa un marco de referencia fijo. Estas imágenes se registraron cada 400 mseg. (Cortesía de P. Forscher).

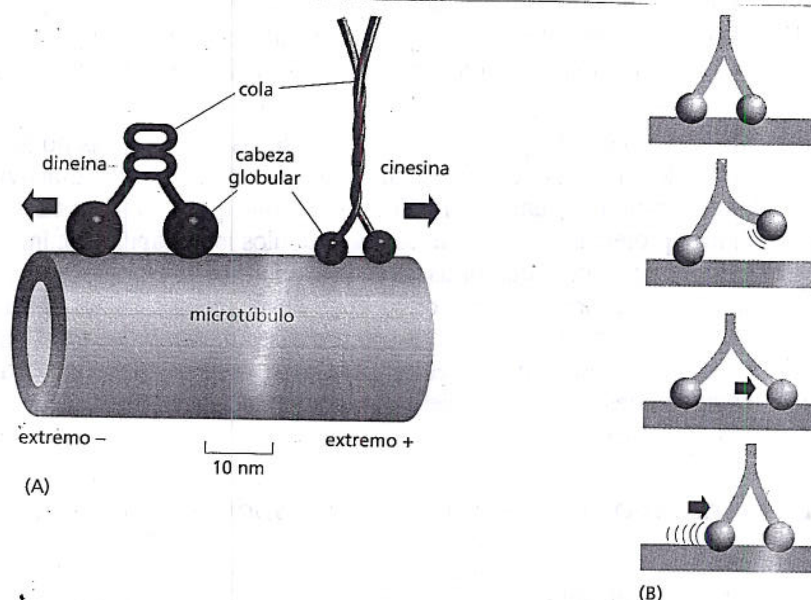


Figura 17-16. Las proteínas motoras se desplazan a lo largo de los microtúbulos impulsadas por sus cabezas globulares. (A) Las cinesinas y las dineínas citoplasmáticas son proteínas motoras de los microtúbulos que, por lo general, se desplazan en direcciones opuestas a lo largo de éstos. Cada proteína (aquí dibujadas a escala) es un dímero compuesto por dos moléculas idénticas. Cada proteína tiene dos cabezas globulares que interactúan con los microtúbulos, en un extremo, y una sola cola, en el otro. (B) Esquema de una proteína motora que ilustra el recorrido dependiente del ATP a lo largo de un filamento (véase también Fig. 4-42).

ca, de modo que la proteína motora se unirá a un microtúbulo sólo en una dirección. Por lo general, la cola de una proteína motora se une en forma estable a algún componente celular, como una vesícula o un orgánulo, y esta unión determina el tipo de carga que puede transportar la proteína motora (**Fig. 17-17**). Las cabezas globulares de cinesina y dineína son enzimas que hidrolizan ATP (ATPasas). Esta reacción aporta la energía para un ciclo de cambios conformacionales de la cabeza que le permiten desplazarse a lo largo del microtúbulo mediante un ciclo de unión, separación y nueva unión (véanse Figs. 17-16B y 4-42). Véase una exposición sobre el descubrimiento y el estudio de las proteínas motoras en **Biología experimental**, pp. 586-588.

Los orgánulos se desplazan a lo largo de los microtúbulos

Los microtúbulos y las proteínas motoras desempeñan un papel importante en el posicionamiento de los orgánulos rodeados de membrana dentro de una célula eucarionte. Por ejemplo, en la mayoría de las células animales, los túbulos del retículo endoplasmático llegan casi hasta el borde celular (**Película 17.5**), mientras que el complejo de Golgi se localiza en la profundidad de la célula, cerca del centrosoma (**Fig. 17-18**). La alineación y la posición tanto del retículo endoplasmático como del complejo de Golgi dependen de los microtúbulos. Las membranas del retículo endoplasmático se extienden hacia la periferia desde sus puntos de unión con la envoltura nuclear (véase Fig. 1-22) y se alinean con microtúbulos que se extienden desde el centrosoma hacia la membrana plasmática. A medida que la célula se desarrolla y el retículo endoplasmático crece, las cinesinas unidas a la

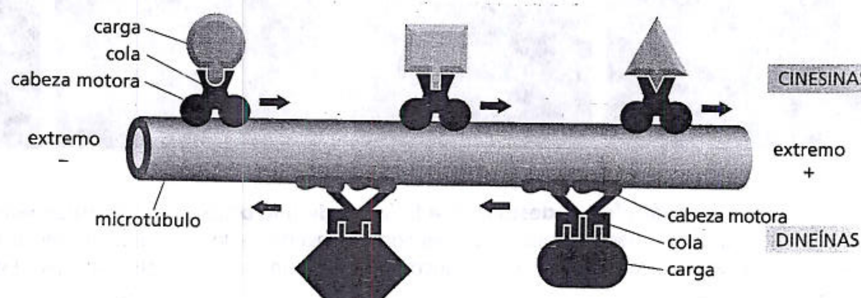


Figura 17-17. Diferentes proteínas motoras transportan carga a lo largo de los microtúbulos. La mayoría de las cinesinas se desplazan hacia el extremo + de un microtúbulo, mientras que las dineínas se desplazan hacia el extremo - (Película 17.6). Ambos tipos de proteínas motoras de microtúbulos están presentes en diversas formas, y se piensa que cada una es responsable del transporte de un material distinto. La cola de la proteína motora determina qué carga transporta la proteína.

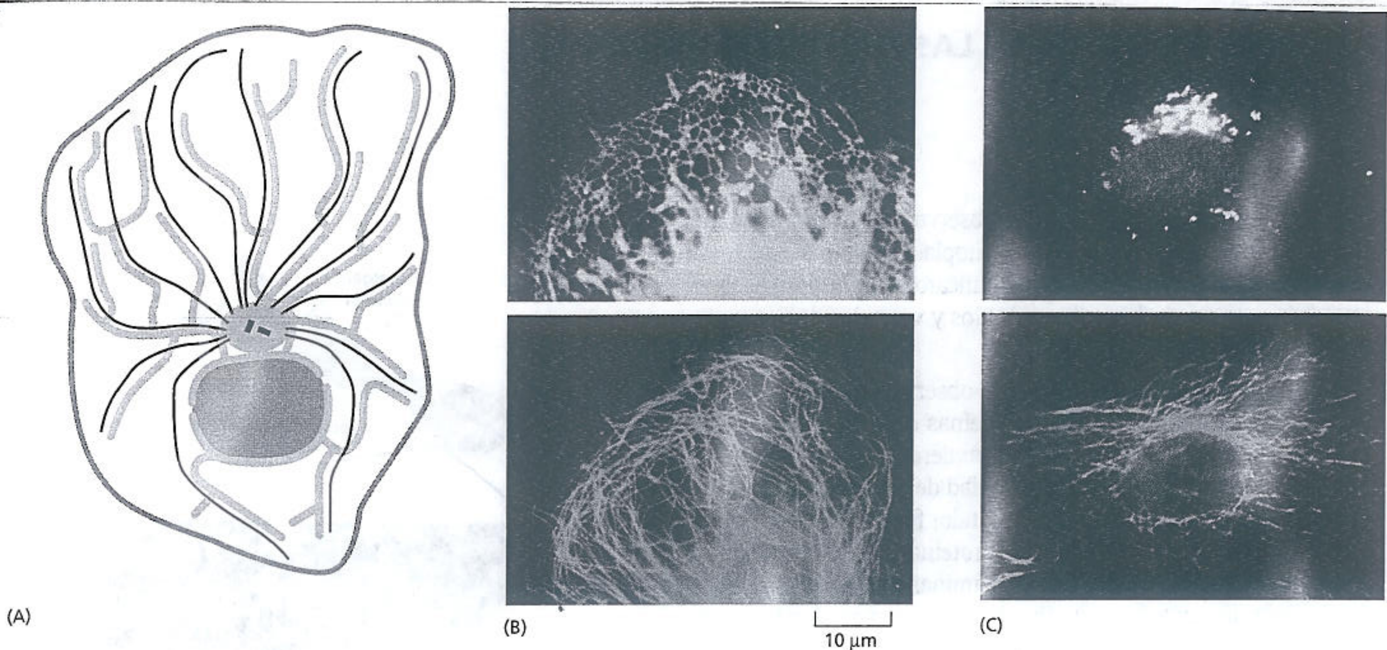


Figura 17-18. Los microtúbulos contribuyen a la organización de los orgánulos de una célula eucarionte. (A) Esquema de una célula en el que se ilustra la disposición típica de los microtúbulos *(verde oscuro)*, el retículo endoplasmático *(azul)* y el complejo de Golgi *(amarillo)*. El núcleo se ilustran en *marrón*, y el centrosoma, en *verde claro*. (B) Célula teñida con anticuerpos contra el retículo endoplasmático (*panel superior*) y contra los microtúbulos (*panel inferior*). Las proteínas motoras traccionan del retículo endoplasmático a lo largo de microtúbulos. (C) Célula coloreada con anticuerpos contra el complejo de Golgi (*panel superior*), y los microtúbulos (*panel inferior*). En este caso, las proteínas motoras desplazan el complejo de Golgi hacia el interior hasta su posición cercana al centrosoma. (B, cortesía de Mark Terasaki, Lan Bo Chen y Keigi Fujiwara; C, cortesía de Viki Allan y Thomas Kreis).

parte externa de la membrana del retículo endoplasmático la traccionan hacia afuera a lo largo de los microtúbulos y la tensan como una red. Las dineínas, unidas de manera similar a las membranas del complejo de Golgi, lo traccionan a lo largo de los microtúbulos pero en la dirección opuesta, hacia el centro de la célula. De esta manera, se crean y mantienen diferencias regionales de las membranas internas, de las que depende la función exitosa de la célula.

En células tratadas con colchicina, que provoca el desensamblaje de los microtúbulos, hay una modificación sustancial de la localización de estos dos orgánulos. El retículo endoplasmático, que tiene conexiones con la envoltura nuclear, colapsa hacia el centro de la célula, mientras que el complejo de Golgi, que no está unido a ningún otro orgánulo, se fragmenta en vesículas pequeñas que se dispersan por todo el citoplasma. Cuando se elimina el fármaco, los orgánulos recuperan sus posiciones originales arrastrados por proteínas motoras que se mueven a lo largo de los microtúbulos que se han vuelto a formar.

Los cilios y los flagelos están formados por microtúbulos estables movidos por la dineína

En una sección anterior de este capítulo, mencionamos que muchos de los microtúbulos celulares son estabilizados por asociación con otras proteínas y dejan de presentar inestabilidad dinámica. Las células utilizan los microtúbulos estables como soportes rígidos que constituyen diversas estructuras polarizadas, como los notables cilios y flagelos que permiten que las células eucariontes desplacen el agua sobre su superficie. Los **cilios** son estructuras piliformes de alrededor de 0,25 μm de diámetro, cubiertas de membrana plasmática, que parten de la superficie de varios tipos de células eucariontes (véase Fig. 17-8C). Cada cilio contiene una porción central formada por un haz de microtúbulos estables que crecen a

PERSECUCIÓN DE LAS PROTEÍNAS MOTORAS

Desde mediados del siglo XIX, se ha observado y medido el movimiento de los orgánulos por todo el citoplasma. Pero recién en la década de 1980, los biólogos identificaron las moléculas que impulsan este movimiento de orgánulos y vesículas de una parte a otra de la célula.

¿A qué se debió esta demora entre la observación y la comprensión? El problema radicó en las proteínas o, más precisamente, en la dificultad de estudiarlas en aislamiento, fuera de la célula. Por ejemplo, para investigar la actividad de una enzima, los bioquímicos purifican primero el polipéptido: fuerzan la apertura de las células o tejidos y separan la proteína de interés de otros componentes moleculares (véanse Láminas 4-4 y 4-5, pp. 164-166). Después, pueden estudiar la proteína por sí misma, in vitro, y controlar su exposición a sustratos, inhibidores, ATP, etc. Lamentablemente, este enfoque no parecía ser útil para estudiar la maquinaria motriz que es la base del transporte intracelular. No es posible abrir una célula y extraer un sistema de transporte plenamente activo, exento de material extraño, que continúe trasladando mitocondrias y vesículas de un sitio a otro.

Las técnicas necesarias para el progreso de la investigación provinieron de dos fuentes distintas. En primer lugar, los avances de la microscopia permitieron que los biólogos advirtieran que se podía "exprimir" un sistema de transporte operativo (con materiales extraños aún unidos a él) del tipo adecuado de célula viva. Al mismo tiempo, los bioquímicos observaron que podían ensamblar un sistema de transporte que funcione, a partir de cero –utilizando cables, motores y cargas purificadas– fuera de la célula. El punto de inflexión comenzó con un calamar.

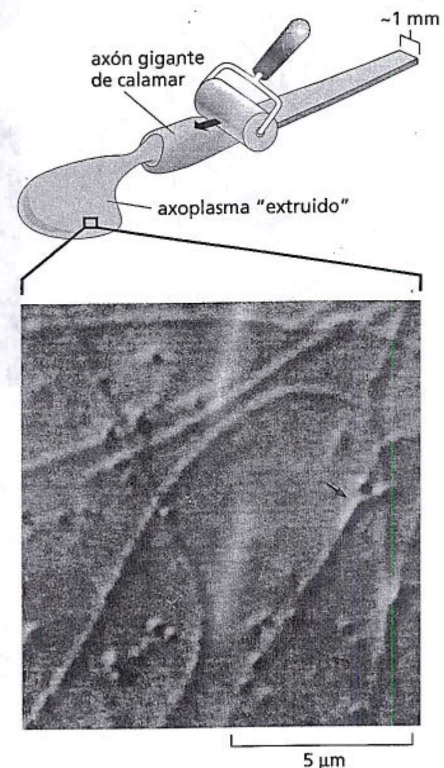


Figura 17-19. Videomicroscopia del citoplasma exprimido de un axón gigante de calamar que revela el movimiento de los orgánulos. En esta micrografía, se visualizan numerosos filamentos citoesqueléticos, junto con diversas partículas transportadas, como una mitocondria *(flecha roja)* y vesículas de menor tamaño *(flechas azules)*. (De R. D. Vale et al., *Cell* 40:449-554, 1985. Con autorización de Elsevier).

Un citoplasma muy poblado

Como se comentó en el capítulo 12, los neurocientíficos interesados en las propiedades eléctricas de las membranas de las células nerviosas han estudiado desde hace tiempo el axón gigante del calamar (véase Biología experimental, pp. 412-413). Dado su gran tamaño, los investigadores observaron que se podía "exprimir" el citoplasma desde el axón como si fuese pasta dentífrica para luego estudiar el desplazamiento de los iones de un lado a otro a través de diversos canales en la membrana vacía similar a un tubo. Los fisiólogos simplemente descartaron el fluido citoplasmático porque lo consideraron inerte y, por lo tanto, desprovisto de interés cuando lo examinaron con el microscopio óptico.

Más adelante se desarrolló la videomicroscopia. Esta técnica, desarrollada por Shinya Inoué, Robert Allen y otros investigadores, permite detectar estructuras cuyo tamaño se encuentra por debajo del límite de detección de los microscopios ópticos convencionales (alrededor de 0,2 µm o 200 nm) (véase Lámina 1-1, pp. 8-9). Se capturan imágenes de una muestra con una videocámara y, luego se las intensifica mediante técnicas computarizadas para reducir el fondo y aumentar el contraste. Cuando los investigadores aplicaron esta nueva técnica a principios de la década de 1980 a preparados de citoplasma de axón de calamar, observaron, por primera vez, el movimiento de las vesículas y los orgánulos rodeados de membrana a lo largo de los filamentos del citoesqueleto.

Con el videomicroscopio, se observa que el axoplasma extruido está colmado de partículas pequeñas –de vesículas de 30 a 50 nm de diámetro a mitocondrias de alrededor de 5.000 nm de longitud– que se desplazan a lo largo de filamentos citoesqueléticos con una velocidad de hasta 5 µm por segundo. Si el axoplasma se extiende en una capa suficientemente delgada, se pueden distinguir filamentos individuales (Fig. 17-19).

Este movimiento continúa durante horas, lo que posibilita que los investigadores manipulen el preparado y estudien los efectos. Por ejemplo, Ray Lasek y Scott Brady descubrieron que el movimiento de los orgánulos requiere ATP. Su sustitución por análogos del ATP, por ejemplo AMP-PNP, que se unen al sitio activo pero no pueden ser hidrolizados (y, en consecuencia, no aportan energía), inhibe la translocación.

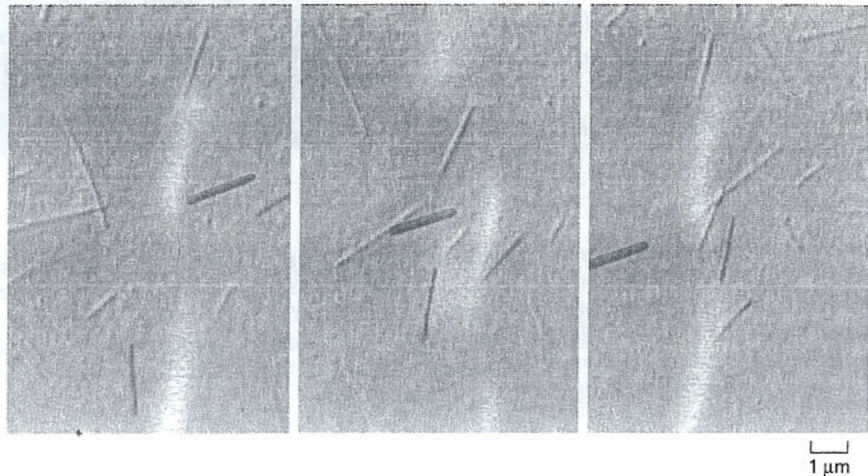


Figura 17-20. Una proteína motora causa el deslizamiento de los microtúbulos. En un análisis de motilidad activa in vitro, se mezcla cinesina purificada con microtúbulos en un medio amortiguador (*buffer*) que contiene ATP. Cuando se coloca una gota de esta mezcla sobre un portaobjetos de vidrio y se la examina por videomicroscopia intensificada, se pueden ver microtúbulos individuales que se deslizan sobre el portaobjetos impulsados por moléculas de cinesina. Las imágenes se registraron a intervalos de 1 segundo. (Cortesía de Nick Carter y Rob Cross).

Tubos reptantes

Se requirieron nuevas investigaciones para identificar los componentes individuales que impulsan el sistema de transporte en los axones de calamar. ¿Cómo están compuestos los filamentos? ¿Cuáles son las maquinarias moleculares que trasladan a las vesículas y orgánulos a lo largo de estos filamentos? La identificación de los "cables" fue relativamente fácil. Estudios con anticuerpos contra α-tubulina revelaron que eran microtúbulos, pero aún no se conocían las proteínas motoras. Para identificarlas, Ron Vale, Thomas Reese y Michael Sheetz elaboraron un sistema en el que podían buscar proteínas que impulsaban el movimiento de los orgánulos.

Su estrategia fue simple pero inteligente: añadieron cables y cargas purificadas, y luego investigaron las moléculas que inducen movimiento. Tomaron microtúbulos purificados del lóbulo óptico del calamar, añadieron orgánulos aislados de axones de calamar y demostraron que se podía desencadenar movimiento mediante la adición de un extracto proveniente del citoplasma del axón de calamar. En este preparado, los investigadores pudieron observar el desplazamiento de los orgánulos a lo largo de los microtúbulos y el deslizamiento reptante de los microtúbulos sobre la superficie de un cubreobjetos de vidrio (véase la pregunta 17-18). Su problema consistió en aislar la proteína responsable del movimiento en este sistema reconstituido.

Con esta finalidad, Vale y col. aprovecharon trabajos previos de Lasek y Brady con el análogo del ATP AMP-PNP. Aunque este análogo inhibe los movimientos de las vesículas a lo largo de los microtúbulos, permite la unión de estos componentes a los filamentos de los microtúbulos. Así, los investigadores incubaron el extracto de citoplasma con microtúbulos en presencia de AMP-PNP y, después, traccionaron de los microtúbulos esperando que las proteínas motoras estuvieran todavía unidas a ellos. Después, añadieron ATP para liberar las proteínas unidas e identificaron un polipéptido de 110 kilodaltons capaz de unirse a los microtúbulos in vitro e iniciar el movimiento (Fig. 17-20). Los autores acuñaron el término cinesina (del griego *kinein*, "mover") para designar a esta molécula.

Estos análisis de motilidad in vitro han sido decisivos para el estudio de las proteínas motoras y sus actividades. Estudios ulteriores revelaron que la cinesina se desplaza a lo largo de los microtúbulos desde el extremo menos hasta el extremo +, y también identificaron muchas otras proteínas relacionadas con la cinesina

Luz, cámara, acción

Mediante la combinación de estos análisis in vitro con técnicas microscópicas aun más refinadas, los investigadores ahora pueden controlar el movimiento de proteínas motoras individuales a lo largo de microtúbulos aislados, incluso en células vivas. Un análisis desarrollado por Steven Block y col. en 1990, permitió controlar el movimiento de microesferas de sílice microscópicas revestidas de cinesina en bajas concentraciones (una sola molécula de cinesina por cada microesfera) a medida que se desplazan por un microtúbulo (Fig. 17-21). El acoplamiento de una proteína motora a una proteína marcadora fluorescente, como la GFP, permitió otras observaciones de moléculas de cinesina aisladas.

Estos estudios de moléculas aisladas han revelado que la cinesina se desplaza a lo largo de microtúbulos en procesión; es decir, cada molécula avanza alrededor de 100 "pasos" a lo largo del filamento antes de desprenderse (Fig. 17-22). Cada uno de estos pasos mide 8 nm, lo que corresponde al intervalo que separa los

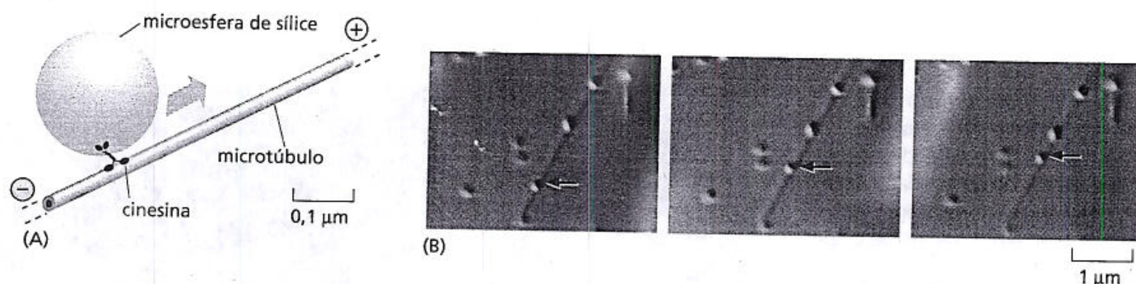


Figura 17-21. Se puede recurrir a la videomicroscopia para rastrear el movimiento de una molécula de cinesina aislada. (A). En este análisis, se revistieron microesferas de sílice con moléculas de cinesina en una concentración tal que, en promedio, cada una tenía una sola molécula de cinesina unida. Luego, se esperó que la cinesina se desplazara a lo largo de un microtúbulo, y se siguió el movimiento rastreando la cuenta de sílice. (B) En esta serie de imágenes, la microesfera es capturada por una pinza óptica láser colocada sobre el filamento de un microtúbulo y, después, se permitió su desplazamiento. Entre cada cuadro, transcurrieron 30 segundos. (De S. Block y col., *Nature* 348:348-352, 1990. Con autorización de MacMillan Publishers Ltd).

dímeros de tubulina a lo largo del microtúbulo. Al combinar estas observaciones con análisis de hidrólisis del ATP, los investigadores confirmaron que se consume una molécula de ATP por paso. La cinesina se puede desplazar en procesión porque tiene dos cabezas (véase Fig. 17-22). Se considera que el motor avanza hacia el extremo + del microtúbulo mediante un mecanismo comparable al movimiento de las manos cuando se asciende o desciende de una escalerilla: cada cabeza se une al filamento y se desprende de éste en forma sucesiva. Se requieren más estudios para refinar este modelo y en la actualidad, los investigadores están trabajando para mejorar sus métodos, de manera de poder observar no sólo moléculas aisladas de cinesina, sino cada cabeza a medida que se mueve respecto de su compañera a lo largo del microtúbulo. Los resultados aportarán nuevos conocimientos sobre los movimientos moleculares que subyacen a la organización y actividad de las células eucariontes.

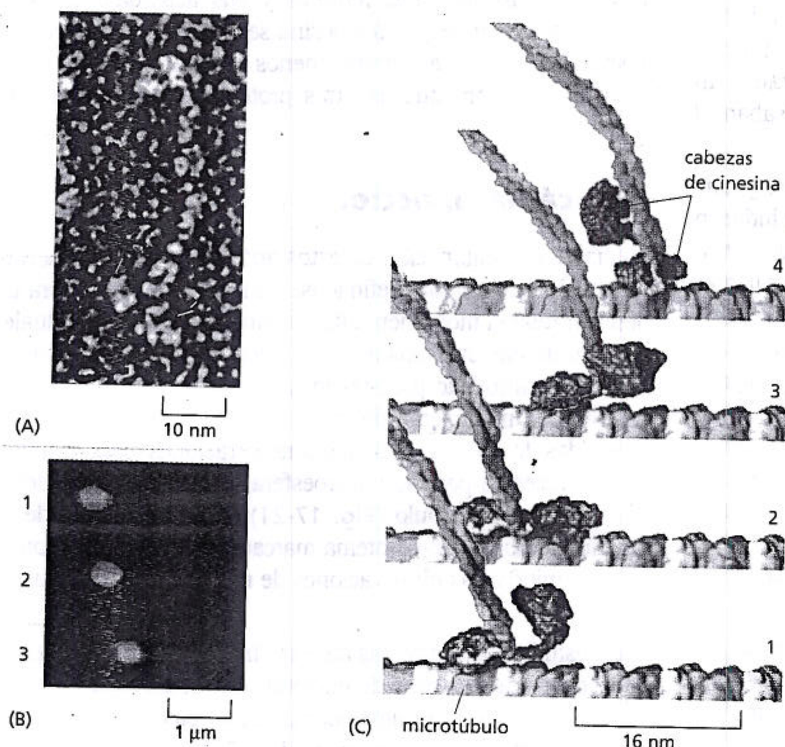


Figura 17-22. Una molécula aislada de cinesina se desplaza a lo largo de un microtúbulo. (A). Microfotografía electrónica de una molécula de cinesina aislada que muestra los dos dominios de la cabeza (flechas *rojas*). (B). Tres cuadros separados por intervalos de 1 seg que registran el movimiento de una molécula de cinesina-GFP individual (*verde*) a lo largo de un microtúbulo (*rojo*) a una velocidad de 0,3 µm/seg. (C). Series de modelos moleculares de las dos cabezas de una molécula de cinesina que ilustran el presunto mecanismo de desplazamiento en procesión a lo largo de un microtúbulo en una serie de pasos de 8 nm de longitud (Película 17.7). (A, cortesía de John Heuser; B y C, cortesía de Ron Vale).

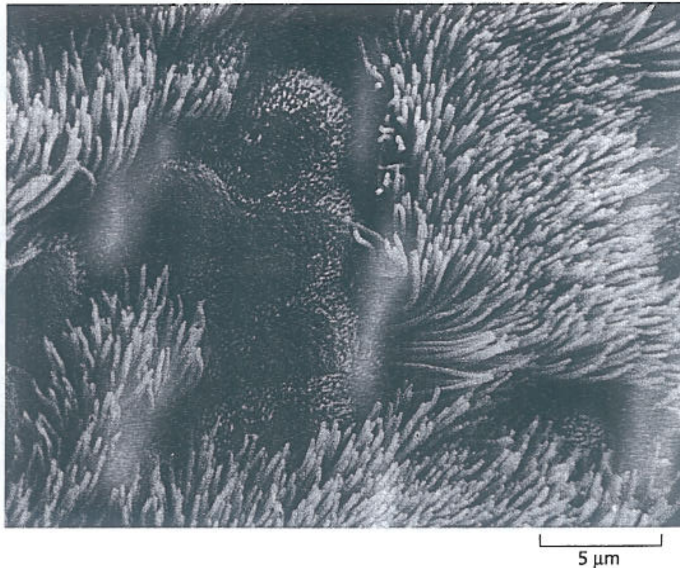


Figura 17-23. Cilios semejantes a pelos revisten la superficie de numerosas células eucariontes. Microfotografía electrónica de barrido del epitelio ciliado de la superficie de la vía respiratoria humana. Los gruesos penachos de cilios de las células ciliadas alternan con las superficies cupuliformes de las células epiteliales no ciliadas. (Reproducido de R. G. Kessel y R H. Karden, *Tissues and Organs*, San Francisco: W. H. Freeman & Co., 1979. Con autorización de W. H. Freeman & Co).

partir de un *cuerpo basal* localizado en el citoplasma; el cuerpo basal actúa como centro organizador del cilio.

Los cilios desplazan agua sobre la superficie de una célula o propulsan células aisladas a través de un medio líquido. Por ejemplo, algunos protozoos utilizan los cilios para recoger partículas alimenticias, y otros los emplean como medios de locomoción. En las células epiteliales que tapizan la vía respiratoria humana (Fig. 17-23), una enorme cantidad de cilios (más de mil millones por centímetro cuadrado) barre capas de mucus que contienen partículas de polvo atrapadas y células muertas hacia la faringe donde son deglutidas y, finalmente, eliminadas del organismo. De modo similar, los cilios presentes en la pared de las trompas uterinas generan una corriente que contribuye a desplazar el óvulo a lo largo de ellas. Cada cilio actúa como un pequeño remo moviéndose en ciclos repetidos generando una corriente que lava la superficie celular (Fig. 17-24).

Los **flagelos** que impulsan a los espermatozoides y a muchos protozoos presentan una estructura interna muy similar a la de los cilios pero, por lo general, son mucho más largos. Los flagelos desplazan a toda la célula, y en lugar de generar una corriente, propagan ondas regulares a lo largo de toda su extensión que impulsan a las células a través de un medio líquido (Fig. 17-25).

Los microtúbulos de cilios y flagelos son ligeramente distintos de los microtúbulos citoplasmáticos y tienen un patrón particular y característico que se consideró uno de los hallazgos más destacables en los albores de la microscopia electrónica. El corte transversal de un cilio revela nueve dobletes de microtúbulos dispuestos en forma anular alrededor de un par de microtúbulos simples (Fig. 17-26A). Esta disposición de "9 + 2" es característica de casi todas las clases de cilios y flagelos eucariontes, desde los que se hallan en los protozoos hasta los que se observan en los seres humanos.

El movimiento de un cilio o flagelo se produce por incurvación de su parte central cuando los microtúbulos se desplazan entre sí. Los microtúbulos se asocian a numerosas proteínas (Fig. 17-26B), que se proyectan en posiciones regulares a lo largo de su haz. Algunas actúan como uniones cruzadas que mantienen unido el haz de microtúbulos; otras generan la fuerza que causa la incurvación del cilio.

La más importante de estas proteínas accesorias es la proteína motora *dineína ciliar*, que provoca el movimiento de incurvación de la parte central. Esta proteína se asemeja mucho a la dineína citoplasmática y actúa de manera muy similar. La dineína ciliar está unida por su cola a un microtúbulo, mientras que su cabeza interactúa con un microtúbulo adyacente generando una fuerza deslizante entre ambos filamentos. Dados los múltiples enlaces que mantienen juntos a los doble-

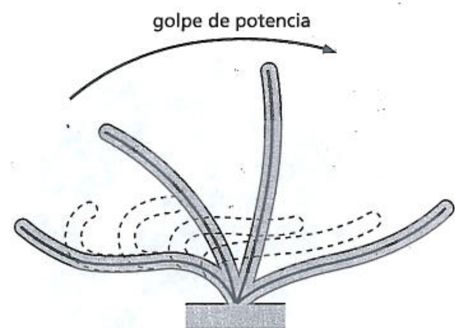


Figura 17-24. La ondulación de un cilio depende de un ciclo repetitivo de movimientos que consisten en un golpe de potencia seguido de un golpe de recuperación. Durante el golpe de potencia rápido, el cilio se extiende por completo y desplaza al líquido sobre la superficie de la célula; durante el golpe de recuperación más lento, el cilio se retrae hasta recuperar su posición con alteración mínima del líquido circundante. Por lo general, cada ciclo dura de 0,1 a 0,2 segundos y genera una fuerza perpendicular al eje del cilio.

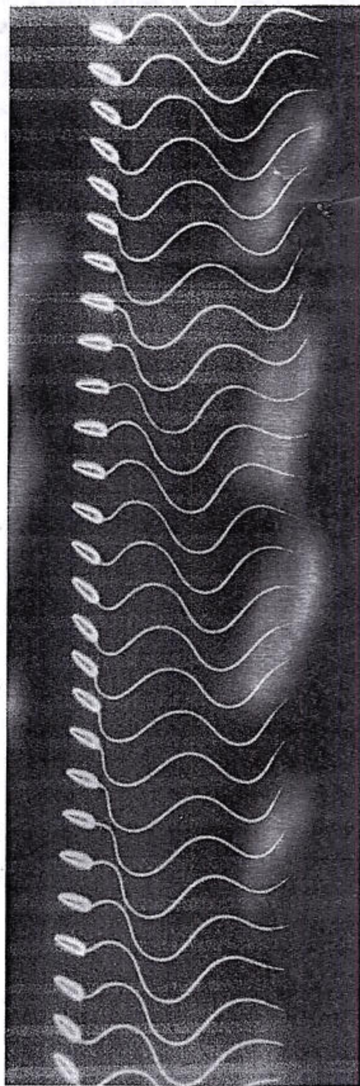
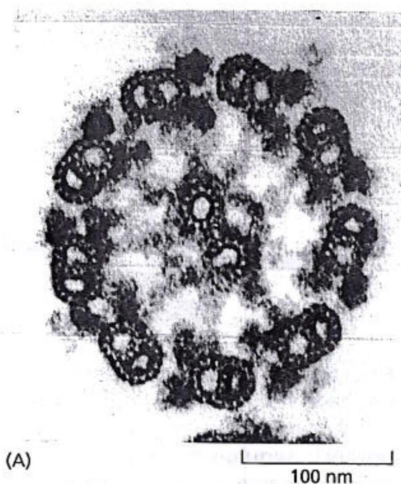


Figura 17-25. Los flagelos propulsan a la célula mediante movimientos ondulatorios repetitivos. Movimiento ondulatorio de un solo flagelo de un espermatozoide de un tunicado visto en una serie de imágenes captadas por iluminación estroboscópica a 400 destellos por segundo. (Cortesía de Charles J. Brokaw).

tes de microtúbulos adyacentes, lo que sería un simple movimiento de deslizamiento paralelo entre microtúbulos libres, se convierte en un movimiento ondulatorio en el cilio (Fig. 17-27). En los seres humanos, los defectos hereditarios de la dineína ciliar causan el síndrome de Kartagener. Los hombres con este trastorno son infértiles, porque sus espermatozoides son inmóviles, y todos los afectados presentan una mayor susceptibilidad a las infecciones bronquiales, porque los cilios que revisten la vía respiratoria están paralizados y, por lo tanto, no pueden eliminar bacterias y restos de los pulmones.

FILAMENTOS DE ACTINA

Los **filamentos de actina** se encuentran en todas las células eucariontes y son esenciales para muchos de sus movimientos, sobre todo los relacionados con la superficie celular. Por ejemplo, en ausencia de filamentos de actina una célula animal no podría desplazarse a lo largo de una superficie, englobar una partícula de gran tamaño mediante fagocitosis ni dividirse en dos células. Al igual que los microtúbulos, muchos filamentos de actina son inestables, pero también pueden formar estructuras celulares estables, como el aparato contráctil del músculo. Los filamentos de actina se asocian con una cantidad abundante de *proteínas fijadoras de actina*, que posibilitan que los filamentos cumplan diversas funciones celulares. Según su asociación con diferentes proteínas, los filamentos de actina pueden dar lugar a la formación de estructuras rígidas y relativamente permanentes, como las *microvellosidades* del ribete en cepillo que tapizan el intestino (Fig. 17-28A) o los pequeños *haces contráctiles* del citoplasma, que tienen la capacidad de contraerse y actuar como los "músculos" de una célula (Fig. 17-28B). También pueden formar estructuras temporarias, como las protrusiones observadas en el borde activo de un fibroblasto en movimiento (Fig. 17-28C) o el *anillo contráctil* que separa el citoplasma en dos partes cuando una célula animal presenta un proceso de división (Fig. 17-28D). En esta sección, se considera cómo la disposición



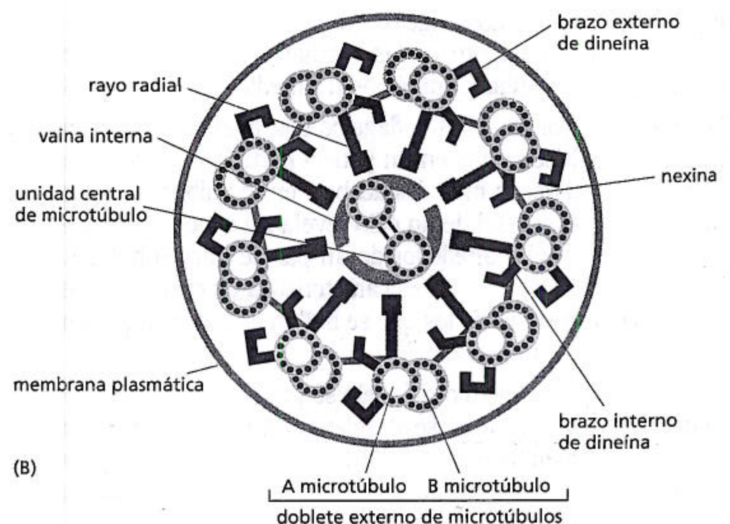


Figura 17-26. Los microtúbulos de un cilio o un flagelo presentan una disposición "9 + 2". (A) Microfotografía electrónica del corte transversal de un flagelo de *Chlamydomonas* que ilustra la disposición "9 + 2" característica de los microtúbulos. (B) Esquema del corte transversal de un flagelo. Los nueve microtúbulos externos (cada uno de ellos una estructura par especial) contienen dos hileras de moléculas de dineína. En esta vista, las cabezas de estas moléculas se observan como pares de brazos que se extienden hacia el microtúbulo adyacente. En un cilio de una célula viva, las cabezas de dineína establecen contactos periódicos con el microtúbulo adyacente y se desplazan a lo largo de éste, lo que genera la fuerza para el movimiento ciliar. Las otras conexiones y proyecciones ilustradas son proteínas que contribuyen a mantener unido el haz de microtúbulos y a convertir el movimiento deslizante generado por las dineínas en una incurvación, como se ilustra en la figura 17-27. (A, cortesía de Lewis Tilney).

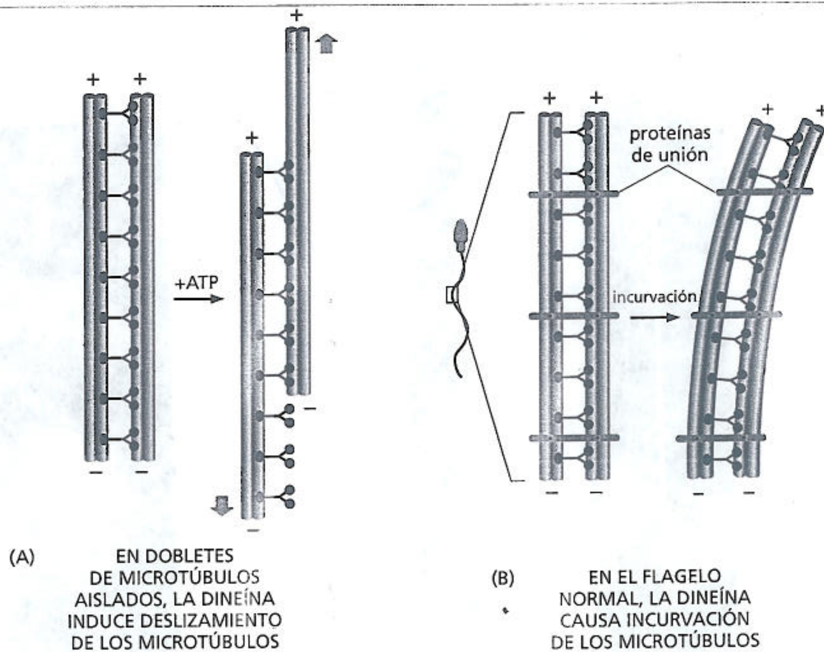


Figura 17-27. El movimiento de la dineína causa la incurvación del flagelo. (A) Si los microtúbulos de los dobletes externos y sus moléculas de dineína asociadas son liberados de los otros componentes de un flagelo de espermatozoide y se los expone luego a ATP, los dobletes se deslizan entre sí con un movimiento telescopado por la acción repetitiva de sus dineínas asociadas. (B) En cambio, en un flagelo intacto, los dobletes están conectados entre sí por uniones proteicas flexibles, de modo que la acción de las dineínas provoca incurvación en lugar de deslizamiento.

de los filamentos de actina de una célula depende de los tipos de proteínas fijadoras de actina presentes. Si bien los filamentos de actina y los microtúbulos están formados por tipos de proteínas no relacionados entre sí, se verá que los principios por los cuales se ensamblan y desensamblan, controlan la estructura celular y desencadenan el movimiento son llamativamente similares.

PREGUNTA 17-4

Los brazos de dineína de un cilio están dispuestos de forma tal que, en estado de activación, las cabezas empujan al doblete externo vecino hacia el extremo del cilio. Considere un corte transversal de un cilio (véase fig. 17-26). ¿Por qué razón no se produciría un movimiento de incurvación si todas las moléculas de dineína se encontraran activas al mismo tiempo? ¿Que patrón de actividad de la dineína puede explicar la incurvación de un cilio en una dirección?

Los filamentos de actina son delgados y flexibles

Los filamentos de actina se visualizan en las microfotografías electrónicas como hebras de alrededor de 7 nm de diámetro. Cada filamento es una cadena retorcida de moléculas globulares de actina idénticas, que apuntan en la misma dirección a lo largo del eje de la cadena. Por lo tanto, al igual que un microtúbulo, un filamento de actina tiene una polaridad estructural, con un extremo + y un extremo - (Fig. 17-29).

Los filamentos de actina son más delgados, más flexibles y, en general, más cortos que los microtúbulos. Sin embargo, son mucho más numerosos, de manera que la longitud total de todos los filamentos de actina de una célula suele ser muchas veces mayor que la longitud total de todos los microtúbulos. Los filamentos de actina rara vez están aislados en la célula; por lo general, se disponen en forma de haces con uniones cruzadas o redes cuya resistencia es mucho mayor que la de los filamentos aislados.

La actina y la tubulina se polimerizan por mecanismos similares

Los filamentos de actina pueden crecer por el agregado de monómeros de actina a uno u otro extremo del filamento, pero la velocidad de crecimiento es mayor en

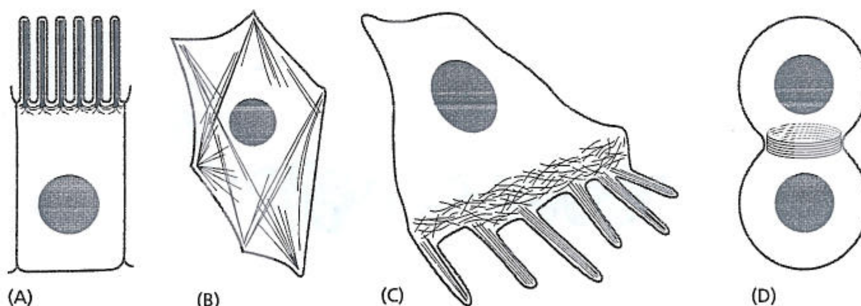


Figura 17-28. Los filamentos de actina permiten que las células eucariontes adopten una diversidad de formas y cumplan distintas funciones. Aquí, se muestran en *rojo* varias estructuras que contienen actina: (A), microvellosidades; (B), haces contráctiles en el citoplasma; (C), proyecciones laminares *(lamelipodios)* y digitiformes *(filopodios)* del borde activo de una célula en movimiento; (D), anillo contráctil durante la división celular.

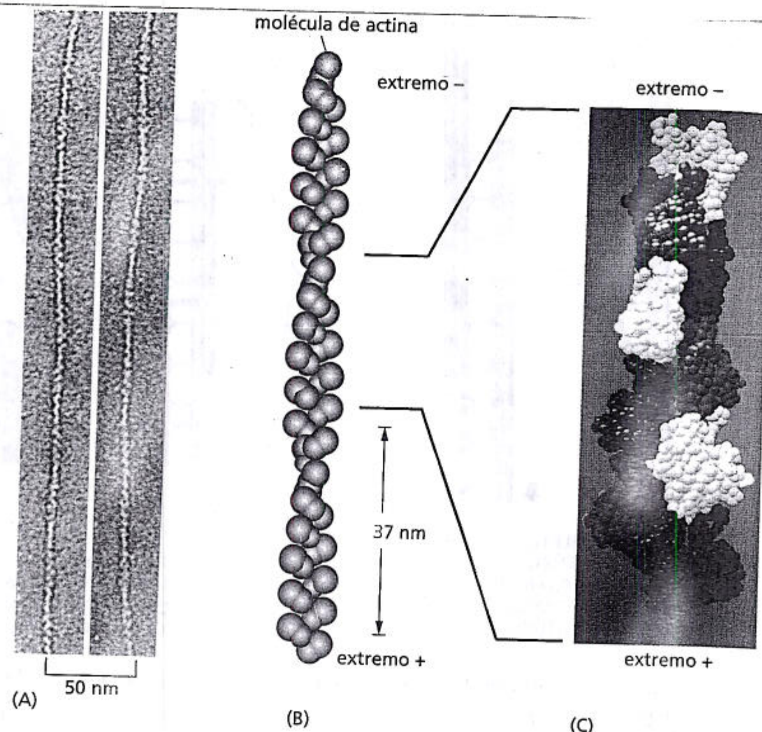


Figura 17-29. Los filamentos de actina son hebras proteicas delgadas y flexibles. (A) Microfotografía electrónica de filamentos de actina teñidos negativamente. (B) Disposición de las moléculas de actina en un filamento de actina. Cada filamento se puede considerar una hélice bicatenaria con un giro que se repite cada 37 nm. Interacciones fuertes entre ambas cadenas impiden su separación. (C) Se ilustraron en diferentes colores las subunidades idénticas de un filamento de actina para destacar la estrecha interacción entre cada molécula de actina y sus cuatro vecinas más próximas. (A, cortesía de Roger Craig; C, de K. C. Holmes y col., *Nature* 347:44-49, 1990. Con autorización de Macmillan Publishers Ltd).

el extremo más que en el extremo menos. Al igual que un microtúbulo sin proteínas asociadas, un filamento de actina desnudo es inherentemente inestable y se puede desensamblar desde cualquiera de sus extremos. Cada monómero de actina libre transporta un nucleótido trifosfato estrechamente unido; en este caso, el nucleótido trifosfato es el ATP, que se hidroliza a ADP poco tiempo después de la incorporación del monómero de actina al filamento. Al igual que en el caso del GTP de la tubulina, la hidrólisis del ATP a ADP en un filamento de actina reduce la fuerza de la unión entre los monómeros y la estabilidad del polímero. En consecuencia, la hidrólisis de nucleótidos promueve la despolimerización y ayuda a la célula a desensamblar los filamentos después de su formación (Fig. 17-30).

PREGUNTA 17-5

La formación de los filamentos de actina en el citosol está controlada por proteínas fijadoras de actina. Algunas de estas proteínas aumentan significativamente la velocidad con la que se inicia la formación de un filamento de actina. Sugiera un mecanismo que pueda explicar este fenómeno.

Como en los microtúbulos, muchas de las funciones desempeñadas por los filamentos de actina, como su participación en la motilidad celular, requieren la capacidad de ensamblarse y desensamblarse. La función de los filamentos de actina puede ser alterada en condiciones experimentales por ciertas toxinas que producen los hongos o las esponjas de mar. Algunas de ellas, por ejemplo las *citocalasinas*, impiden la polimerización de la actina, mientras que otras, como la *faloidina*, estabilizan los filamentos de actina y los protegen de la despolarización (véase cuadro 17-1, p. 582). El agregado de estas toxinas al medio que baña las células o los tejidos, aun en bajas concentraciones, detiene en forma instantánea los movimientos celulares, como el deslizamiento de un fibroblasto. Por lo tanto, la función de los filamentos de actina depende de su equilibrio dinámico con la

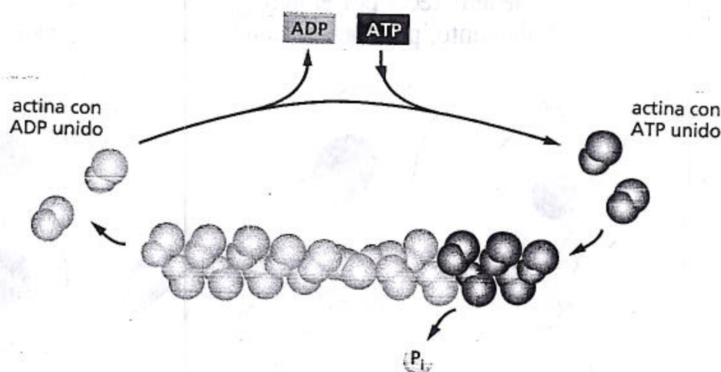


Figura 17-30. La hidrólisis del ATP reduce la estabilidad del polímero de actina. Los monómeros de actina presentes en el citosol son portadores de ATP, que es hidrolizado a ADP poco después del ensamblaje en un filamento en crecimiento. Las moléculas de ADP permanecen atrapadas dentro del filamento de actina y no pueden ser intercambiadas por ATP hasta que el monómero de actina que las transporta se disocia del filamento.

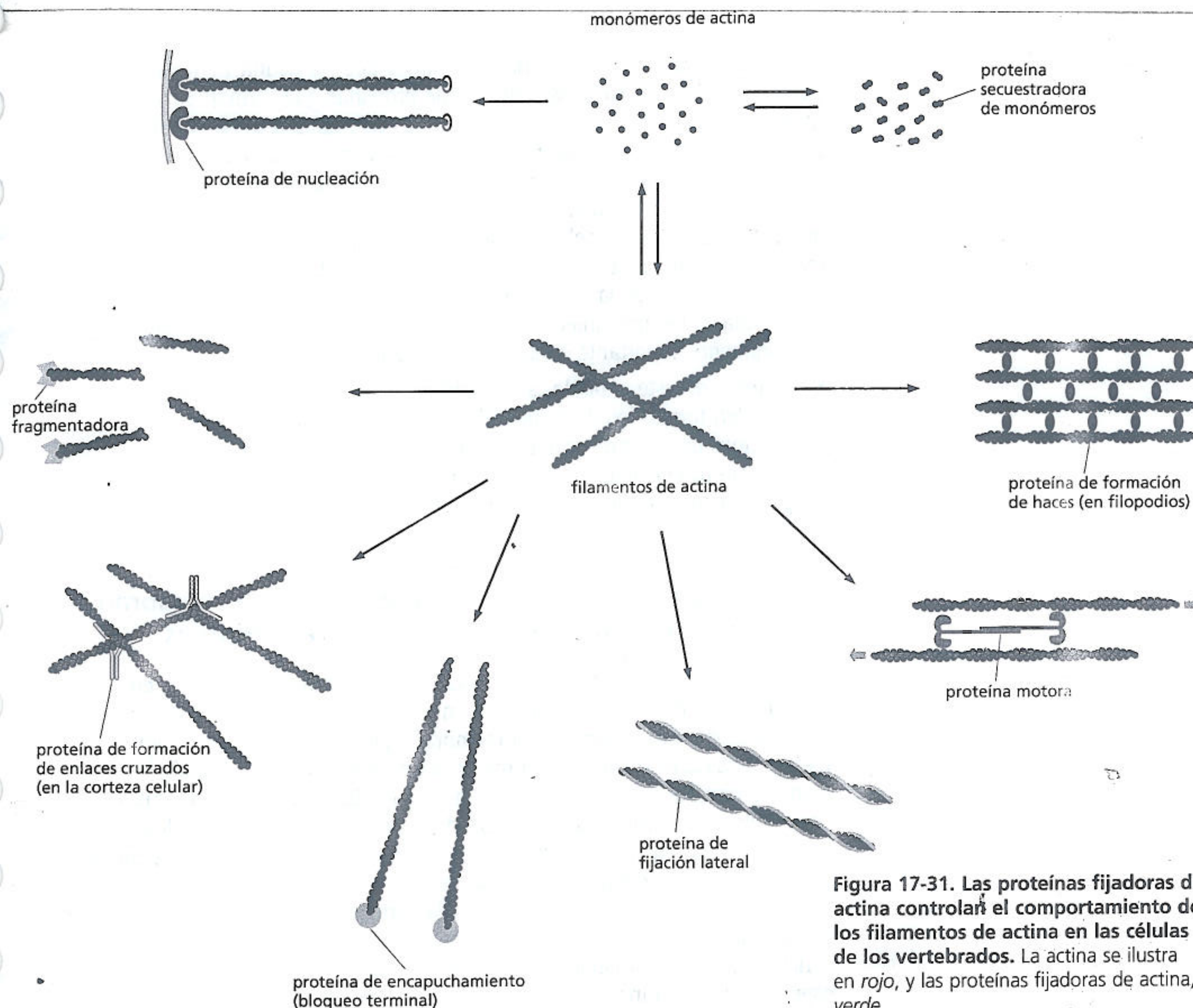


Figura 17-31. Las proteínas fijadoras de actina controlan el comportamiento de los filamentos de actina en las células de los vertebrados. La actina se ilustra en *rojo*, y las proteínas fijadoras de actina, en *verde*.

reserva de monómeros de actina libres. Con frecuencia, los filamentos sólo duran algunos minutos después de su formación.

Numerosas proteínas se unen a la actina y modifican sus propiedades

Alrededor del 5% de todas las proteínas de una célula animal corresponde a actina; alrededor de la mitad de esta actina está ensamblada en filamentos, y la otra mitad se halla en forma de monómeros en el citosol. Por lo tanto, la concentración del monómero es alta y mucho mayor que la requerida para la polimerización in vitro de monómeros de actina purificados. En consecuencia, ¿qué impide que los monómeros de actina se polimericen totalmente y formen filamentos? La respuesta es que las células contienen proteínas pequeñas, como la *timosina* y la *profilina*, que se unen a monómeros de actina del citosol, lo que les impide agregarse a los extremos de los filamentos de actina. Al mantener como reserva los monómeros de actina hasta que son requeridos, estas proteínas desempeñan un papel crucial en la regulación de la polimerización de la actina. Cuando se necesitan filamentos de actina, otras proteínas fijadoras de actina promueven su ensamblaje. Las proteínas denominadas *forminas* y las *proteínas relacionadas con actina (ARP)* controlan el ensamblaje de la actina en el frente de avance de una célula que migra.

Hay numerosas proteínas fijadoras de actina en las células. En su mayoría, no se unen a los monómeros de actina, sino a filamentos de actina ensamblados, y con-

trolan el comportamiento de los filamentos intactos (Fig. 17-31). Por ejemplo, existen proteínas que mantienen los filamentos de actina agrupados en haces paralelos en las microvellosidades; otras proteínas que forman enlaces cruzados mantienen los filamentos de actina en una red similar a un gel dentro de la *corteza celular*, la capa de citoplasma localizada inmediatamente por debajo de la membrana plasmática; las proteínas fragmentadoras de filamentos, como la *gelsolina*, seccionan los filamentos de actina en segmentos más cortos y, de ese modo, pueden convertir el gel de actina en un componente más líquido. Los filamentos de actina también pueden asociarse con proteínas motoras y formar haces contráctiles, como en las células musculares. A menudo, forman carriles a lo largo de los cuales las proteínas motoras transportan orgánulos, una función que es especialmente importante en las células vegetales.

En el resto de este capítulo, se considerarán algunas estructuras características que pueden formar los filamentos de actina, y se analizarán cómo distintos tipos de proteínas fijadoras de actina participan en su formación. Se trata primero la corteza celular rica en actina y su papel en la locomoción celular, y en la sección final, el aparato contráctil de las células musculares como ejemplo de estructura estable basada en filamentos de actina.

Una corteza rica en actina se extiende bajo la membrana plasmática de la mayoría de las células eucariontes

Aunque la actina se distribuye por todo el citoplasma de las células eucariontes, en la mayoría de éstas se encuentra en gran concentración en una capa situada inmediatamente por debajo de la membrana plasmática. En esta región, denominada **corteza celular**, los filamentos de actina están unidos entre sí por proteínas fijadoras formando una red que sostiene la superficie externa de la célula y le confiere resistencia mecánica. Como se describe en el capítulo 11, los eritrocitos contienen una red simple y regular de proteínas fibrosas unidas a la membrana plasmática que les confiere el soporte necesario para mantener su forma discoidal simple (véase Fig. 11-31). En cambio, la corteza celular de otras células animales es más gruesa y más compleja, y mantiene un repertorio mucho más rico de conformaciones y movimientos. Al igual que la corteza de un eritrocito, contiene espectrina y anquirina, pero además alberga una densa red de filamentos de actina que se proyectan hacia el citoplasma, donde forman una red tridimensional mediante enlaces cruzados. Esta malla cortical de actina gobierna la forma y las propiedades mecánicas de la membrana plasmática y la superficie celular: la reorganización de los filamentos de actina en el interior de la corteza es la base molecular de las modificaciones de forma y locomoción de las células.

El deslizamiento celular depende de la actina

Numerosas células se mueven deslizándose sobre superficies en lugar de nadar mediante cilios o flagelos. Las amebas carnívoras reptan o se deslizan continuamente en busca de alimentos. El extremo de avance de un axón en desarrollo migra en respuesta a factores de crecimiento y sigue una trayectoria de sustancias químicas unidas al sustrato y difusibles hasta su diana sináptica final. Los leucocitos conocidos con el nombre de *neutrófilos* migran desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos cuando "huelen" pequeñas moléculas que difunden de bacterias, a las que buscan y destruyen. En estos cazadores inmunitarios, las moléculas quimiotácticas que se unen a receptores de la superficie celular desencadenan cambios del ensamblaje de los filamentos de actina que impulsan a las células hacia su presa.

Los mecanismos moleculares de éstas y otras formas de deslizamiento celular implican cambios coordinados de numerosas moléculas en distintas regiones de la célula, y no existe ningún orgánulo locomotor aislado, por ejemplo un flagelo, que sea el responsable. No obstante, en términos generales, se sabe que hay tres mecanismos interrelacionados esenciales: (1) la célula emite protrusiones en su

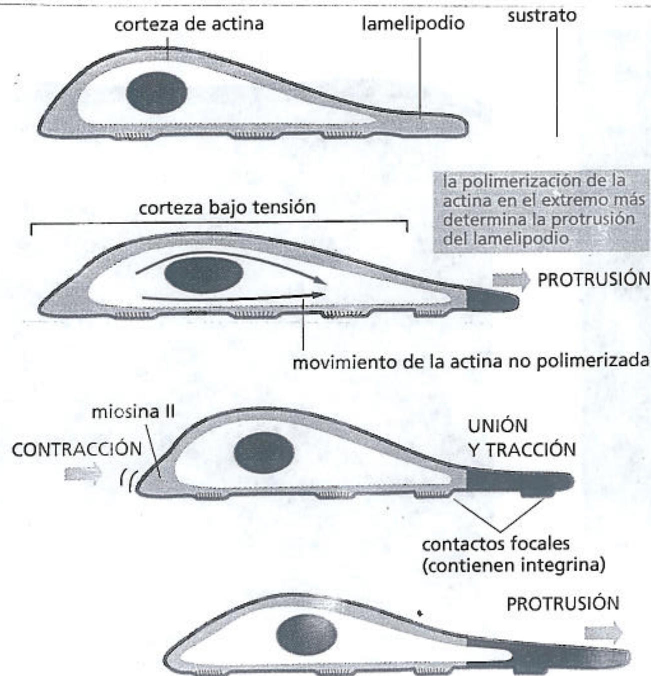
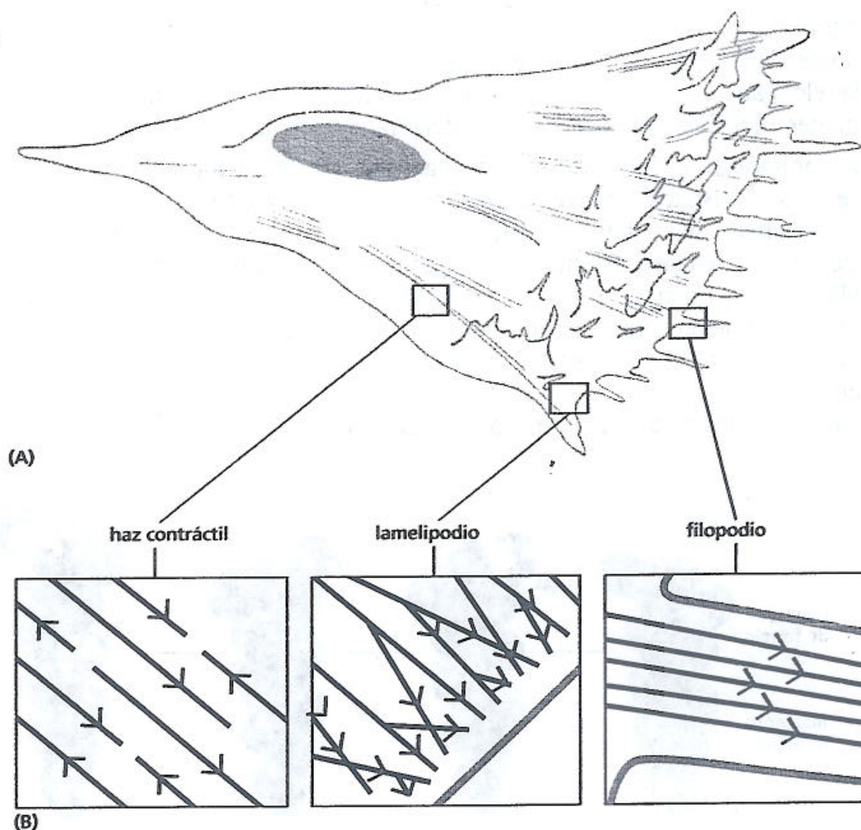


Figura 17-32. Las fuerzas generadas en la corteza celular rica en actina mueven la célula hacia adelante. En este mecanismo propuesto para el movimiento celular, la polimerización de la actina en el borde activo de la célula *empuja* hacia adelante la membrana plasmática (protrusión) y forma nuevas regiones de corteza con actina, de color *rojo* en la figura. Se crean nuevos puntos de anclaje entre los filamentos de actina y la superficie sobre la que se desliza la célula (fijación). La contracción de la parte posterior de la célula impulsa el cuerpo celular hacia adelante (tracción). A medida que la célula avanza, se forman nuevos puntos de anclaje en la parte anterior, y se liberan los de la parte posterior. La repetición incesante de este ciclo impulsa a la célula hacia adelante en forma escalonada.

"frente" o borde activo; (2) estas protrusiones se adhieren a la superficie sobre la cual la célula se desliza, y (3) el resto de la célula se arrastra hacia adelante por tracción sobre estos puntos de apoyo (Fig. 17-32).

En los tres procesos, interviene la actina, aunque de distintas maneras. El primer paso, el empuje hacia adelante de la superficie celular se produce por la polimerización de la actina. El borde activo de un fibroblasto deslizante en cultivo emite regularmente **lamelipodios** delgados, laminares, que contienen una densa red de filamentos de actina orientados de manera que la mayoría de ellos tienen sus



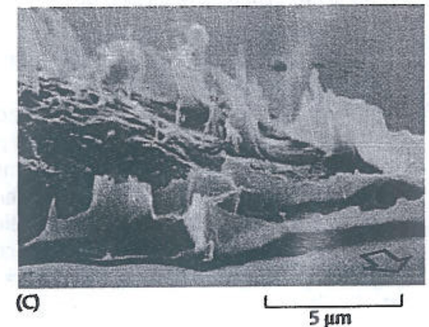
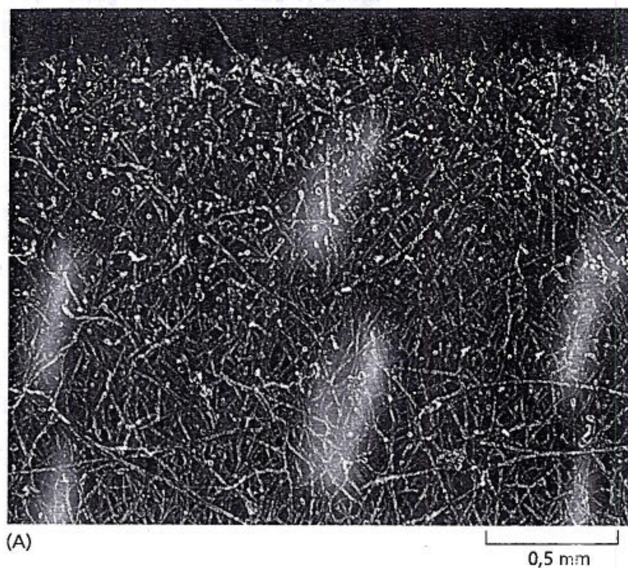


Figura 17-33. Los filamentos de actina permiten la migración de las células animales. (A) Esquema de un fibroblasto que muestra lamelipodios aplanados y filopodios delgados que se proyectan de su superficie, sobre todo en las regiones del borde activo. (B) Detalles de la disposición de los filamentos de actina en tres regiones del fibroblasto; las puntas de flecha apuntan hacia el extremo más de los filamentos. (C) Microfotografía electrónica de barrido que muestra lamelipodios y filopodios en el borde activo de un fibroblasto humano que migra en un cultivo. La flecha indica la dirección del movimiento celular. (C, cortesía de Julian Heath).



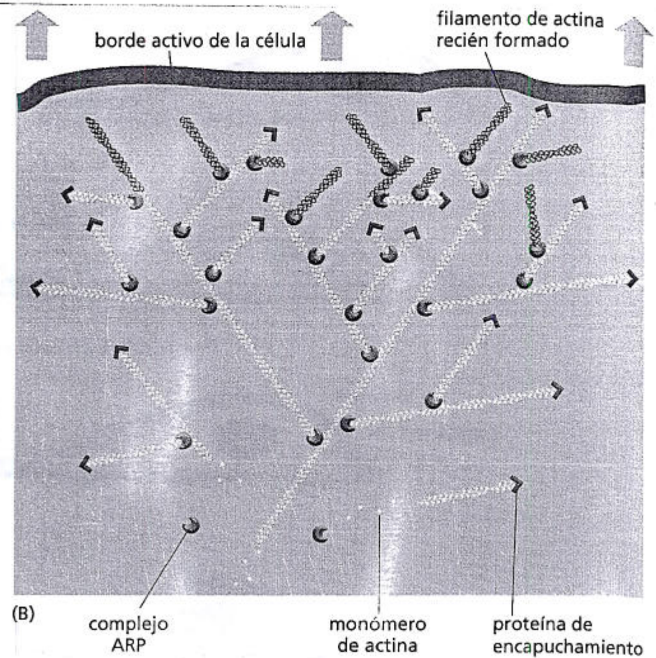


Figura 17-34. Una red de filamentos de actina empuja hacia adelante el borde activo de un lamelipodio. (A) Se fijaron, secaron y trataron con platino queratocitos sumamente móviles del tegumento de rana, y se los examinó con el microscopio electrónico. Los filamentos de actina forman una red densa, en la que los extremos de crecimiento rápido de los filamentos finalizan en el borde activo del lamelipodio (parte superior de la figura). (B) La nucleación de nuevos filamentos de actina (*rojo*) es mediada por complejos ARP (*anaranjado*) adheridos a los lados de los filamentos preexistentes. La estructura ramificada resultante empuja hacia adelante la membrana plasmática. Los extremos más de los filamentos de actina están protegidos por proteínas de encapuchamiento (*azules*), mientras que los extremos menos de los filamentos de actina más próximos al centro de la célula se desensamblan continuamente por la acción de proteínas despolimerizantes (no mostradas). Por lo tanto, la red de actina en su conjunto presenta un movimiento hacia atrás constante debido al ensamblaje de filamentos en su parte anterior y su desensamblaje en la parte posterior. (Cortesía de Tatyana Svitkina y Gary Borisy).

extremos más cerca de la membrana plasmática (Fig. 17-33). Muchas células también emiten proyecciones rígidas y delgadas denominadas **filopodios**, tanto en el borde activo como en otras zonas de su superficie. Estas proyecciones miden alrededor de 0,1 μm de ancho por 5-10 μm de largo, y cada una contiene un haz laxo de 10 a 20 filamentos de actina, que también están orientados con sus extremos más hacia afuera. El extremo de avance (cono de crecimiento) de un axón en desarrollo envía filopodios aun más largos (de hasta 50 μm), que le ayudan a explorar el medio circundante y a encontrar la vía apropiada hacia su diana. Tanto los lamelipodios como los filopodios son estructuras móviles, de reconocimiento, que se forman y se retraen a gran velocidad, y se mueven a alrededor de 1 μm por segundo. Se considera que ambas son generadas por el crecimiento local rápido de filamentos de actina, que se ensamblan cerca de la membrana plasmática y se elongan por adición de monómeros de actina a sus extremos más. De esta manera, los filamentos empujan la membrana hacia delante sin desgarrarla.

La formación y el crecimiento de los filamentos de actina en el borde activo de una célula son asistidos por diversas proteínas accesorias fijadoras de actina. Un grupo de proteínas –las proteínas relacionadas con la actina, o ARP– estimulan la formación de una red de filamentos de actina ramificados. Estas proteínas forman complejos que se unen a los filamentos de actina existentes y nuclean la formación de nuevos filamentos, que crecen en ángulo generando ramas laterales (Fig. 17-34). Con la ayuda de otras proteínas fijadoras de actina, esa red experimenta un ensamblaje continuo en el borde activo y un desensamblaje más atrás, lo que empuja hacia adelante los lamelipodios. La otra clase de proyección celular, el filo-

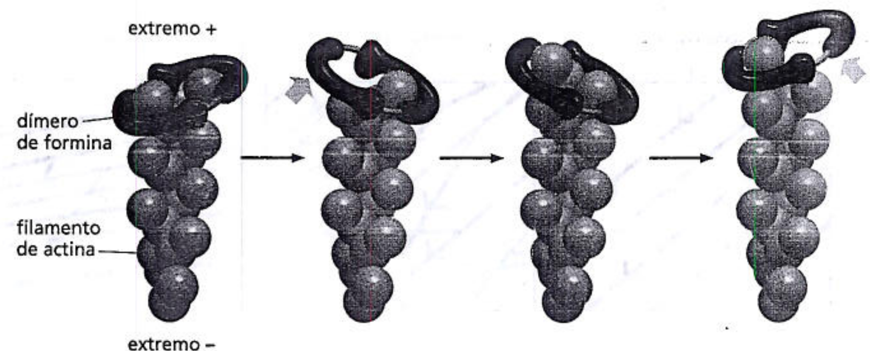


Figura 17-35. Las forminas ayudan a impulsar la elongación de los filamentos de actina. Dímeros de formina (*verde*) se unen al extremo en crecimiento de un filamento de actina (*rojo*). Cada subunidad de formina se une a un monómero de actina. El dímero de formina promueve el crecimiento del filamento al sujetar una de las dos subunidades de actina expuestas en el extremo más y al incorporar un nuevo monómero de actina.

podio, depende de las forminas, que se unen a los extremos en crecimiento de los filamentos de actina y promueven el agregado de nuevos monómeros que forman filamentos rectos, no ramificados (Fig. 17-35). Las forminas también participan en otras partes ensamblando filamentos no ramificados, como en el surco de fragmentación de una célula animal en división.

Cuando los lamelipodios y los filopodios entran en contacto con una zona favorable de la superficie, se adhieren a ella: proteínas transmembrana de su membrana plasmática, conocidas como *integrinas*, se adhieren a moléculas de la matriz extracelular que rodea a las células o a la superficie de una célula vecina sobre la que se desliza la célula en movimiento. Mientras tanto, en la cara intracelular de la membrana de la célula deslizante, las integrinas capturan filamentos de actina, lo que crea un anclaje firme para el sistema de filamentos de actina en el interior de la célula deslizante (véase Fig. 20-14C). Este anclaje arrastra el cuerpo de la célula hacia adelante, mediante contracciones internas que ejercen una fuerza de tracción (véase Fig. 17-32). Estas contracciones internas también dependen de la actina, pero el mecanismo es diferente y se basa en la interacción de los filamentos de actina con proteínas motoras llamadas *miosinas*. No se sabe aún cómo se produce esta fuerza de tracción: se puede deber a la contracción de haces de filamentos de actina del citoplasma o a la contracción de la red de actina de la corteza celular o a ambos procesos. En cambio, como se analiza a continuación, se conocen con claridad los principios generales que rigen la interacción entre las proteínas motoras miosinas y los filamentos de actina que generan movimiento.

PREGUNTA 17-6

Suponga que las moléculas de actina de una célula cutánea cultivada fueron marcadas al azar de manera que 1 de cada 10.000 moléculas es portadora de un marcador fluorescente. ¿Qué observaría si examinara el lamelipodio (borde activo) de esta célula con un microscopio de fluorescencia? Considere que el microscopio es suficientemente sensible para detectar moléculas fluorescentes aisladas.

La actina se asocia con la miosina y forma estructuras contráctiles

Todas las proteínas motoras dependientes de la actina pertenecen a la familia de la **miosina**. Estas proteínas se unen al ATP y lo hidrolizan, lo que aporta la energía para su movimiento a lo largo de los filamentos de actina desde el extremo - hacia el extremo +. La miosina, junto con la actina, fue descubierta por primera vez en el músculo esquelético, y gran parte del conocimiento actual acerca de la interacción de ambas proteínas provino de estudios realizados en músculos. Las células contienen varios tipos de miosina, de los cuales predominan las subfamilias *miosina I* y *miosina II*. La miosina I se encuentra en todos los tipos de células, y como su estructura y mecanismo de acción son más simples, se analizará en primer término.

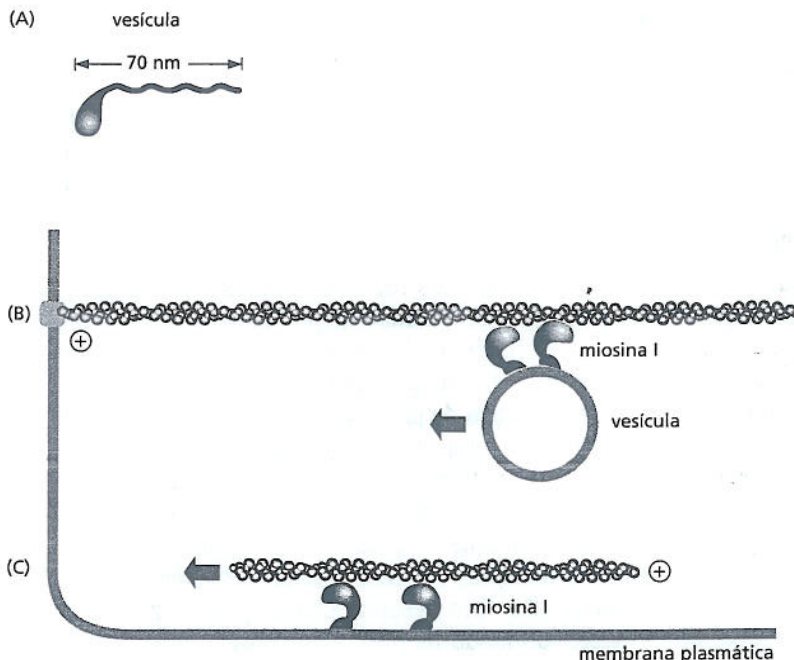


Figura 17-36. La cola corta de una molécula de miosina I contiene sitios de unión a diversos componentes de la célula, incluidas las membranas. (A) La miosina I tiene una sola cabeza globular y una cola que se une a otra molécula o a otro orgánulo de la célula. Esta organización permite que el dominio de la cabeza induzca el desplazamiento de una vesícula respecto de un filamento de actina (B), o de un filamento de actina respecto de la membrana plasmática (C). Obsérvese que el grupo de la cabeza de la miosina invariablemente se desplaza hacia el extremo más del filamento de actina con el que se pone en contacto.

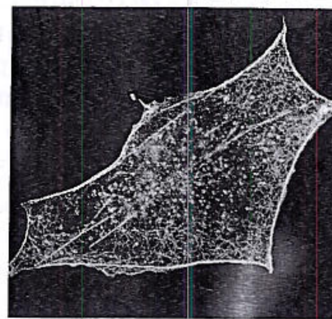
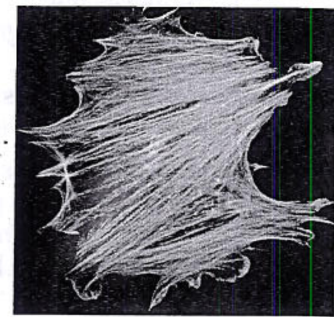
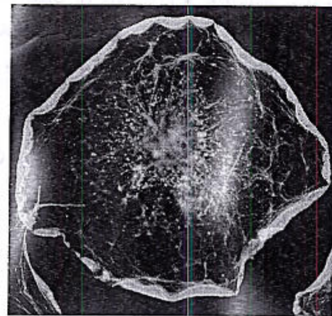
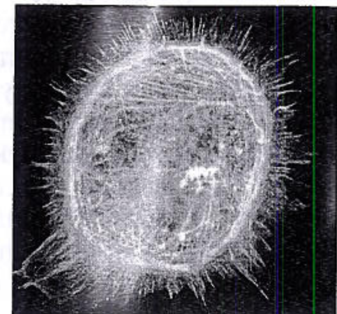





Figura 17-37. La activación de proteínas fijadoras de GTP ejerce un efecto sustancial sobre la organización de los filamentos de actina de los fibroblastos. En estas microfotografías, se ha teñido la actina con faloidina, una molécula que se une a los filamentos de actina (véase cuadro 17-1, p. 582), marcada con una sustancia fluorescente. (A) En los fibroblastos no estimulados, los filamentos de actina se localizan sobre todo en la corteza celular. (B) La microinyección de una forma activada de Rho promueve el rápido ensamblaje de haces contráctiles largos, no ramificados. (C) La microinyección de una forma activada de Rac, una proteína de unión a GTP similar a Rho, induce la formación de un enorme lamelipodio que se proyecta desde toda la circunferencia de la célula. (D) La microinyección de una forma activada Cdc42, otro miembro de la familia Rho, estimula la proyección de numerosos filopodios largos en la periferia celular. (De A. Hall, *Science* 279:509-514, 1988. Con autorización de la AAAS).

Las moléculas de miosina I tienen sólo una cabeza y una cola (Fig. 17-36A). El dominio de la cabeza interactúa con filamentos de actina y presenta actividad motora dependiente de la hidrólisis del ATP que le permite desplazarse a lo largo del filamento en un ciclo de unión, separación y reunión (Película 17-9). La cola varía entre los distintos tipos de miosina I y determina qué componentes celulares serán arrastrados por el motor. Por ejemplo, la cola se puede unir a un tipo particular de vesícula de membrana y propulsarla a través de la célula a lo largo de los carriles de filamentos de actina (Fig. 17-36B) o se puede fijar a la membrana plasmática y desplazarla respecto de los filamentos de actina corticales, lo que modifica su conformación (Fig. 17-36C).

Señales extracelulares controlan la disposición de los filamentos de actina

Se ha visto que la miosina y otras proteínas fijadoras de actina pueden regular la localización, la organización y el comportamiento de los filamentos de actina. Pero, a su vez, la actividad de estas proteínas accesorias es controlada por señales extracelulares, lo que permite que la célula reorganice su citoesqueleto en respuesta al ambiente.

En el caso del citoesqueleto de actina, estos reordenamientos estructurales son desencadenados por la activación de una variedad de proteínas receptoras incluidas en la membrana plasmática. Después, todas estas señales parecen converger en el interior de la célula sobre un grupo de proteínas de unión a GTP estrechamente relacionadas, denominadas **familia de proteínas Rho**. Como se señaló en el capítulo 16, este tipo de proteínas se comportan como interruptores moleculares que controlan los procesos celulares mediante pasajes cíclicos de un estado unido al GTP activo a un estado unido al GDP inactivo (véase Fig. 16-14B). En el caso del citoesqueleto, la activación de diferentes miembros de la familia Rho afecta la organización de los filamentos de actina de distintas maneras. Por ejemplo, la activación de un miembro de la familia Rho desencadena la polimerización de la actina y la agrupación en haces formando filopodios, mientras que la activación de otra promueve la formación de lamelipodios laminares y el plegamiento de la

PREGUNTA 17-7

En el borde activo de una célula deslizante, los extremos más de los filamentos de actina se localizan cerca de la membrana plasmática, y los monómeros de actina se agregan a estos extremos, lo que empuja hacia afuera a la membrana y se forman lamelipodios o filopodios. ¿Qué sostiene a los filamentos en los extremos opuestos y evita que sean empujados hacia el interior de la célula?

membrana; la activación de la propia Rho impulsa la formación de haces de filamentos de actina con miosina II y la agrupación de integrinas que promueve el deslizamiento celular (Fig. 17-37).

Estos cambios estructurales sustanciales y complejos se producen porque las proteínas de unión a GTP, junto con las proteincinasas y las proteínas accesorias con las que interactúan, funcionan como una red informática que controla la organización y la dinámica de la actina. Esta red recibe señales externas de nutrientes, factores de crecimiento y contactos con células vecinas, junto con 'información interna' respecto del estado nutricional, el tamaño y la preparación para la división de la célula. Después, la red Rho procesa estas aferencias y genera señales que modelan el citoesqueleto de actina; p. ej., al activar las proteínas forminas que promueven la formación de filopodios (véase Fig. 17-35) o al aumentar las actividades de nucleación de la actina de los complejos ARP en el borde activo de la célula formando grandes lamelipodios.

Uno de los reordenamientos más estrechamente regulados de los elementos del citoesqueleto se produce cuando la actina se asocia con la miosina en las fibras musculares en respuesta a señales provenientes del sistema nervioso. A continuación, se analiza cómo esta interacción molecular genera los movimientos rápidos, repetitivos y enérgicos característicos de la contracción de los músculos de los vertebrados.

CONTRACCIÓN MUSCULAR

La contracción muscular es el más familiar y el mejor estudiado de todos los movimientos de las células animales. En los vertebrados, correr, caminar, nadar y volar dependen de la capacidad del *músculo esquelético* de contraerse con fuerza y mover diversos huesos. Los movimientos involuntarios, como el bombeo cardíaco y el peristaltismo intestinal, dependen de la acción del *músculo cardíaco* y el *músculo liso*, respectivamente, que están formados por células musculares con una estructura diferente de las células del músculo esquelético, pero que utilizan actina y miosina de una manera similar para contraerse. Aunque las células musculares son altamente especializadas, muchos movimientos celulares, desde la locomoción de células enteras hasta el movimiento de los distintos componentes intracelulares, dependen de la interacción entre la actina y la miosina. Gran parte de los conocimientos acerca de los mecanismos de la motilidad celular derivan de estudios de la contracción de las células musculares. En esta sección, se analiza cómo interactúan la actina y la miosina generando movimiento coherente.

PREGUNTA 17-8

Si tanto los filamentos gruesos como los filamentos delgados del músculo están compuestos por subunidades que se mantienen unidas por enlaces no covalentes débiles, ¿cómo es posible que un ser humano levante objetos pesados?

La contracción muscular depende de haces de actina y miosina

La miosina del músculo pertenece a la subfamilia de la miosina II, que tienen dos cabezas con actividad de ATPasa y una cola larga bastoniforme (Fig. 17-38A).

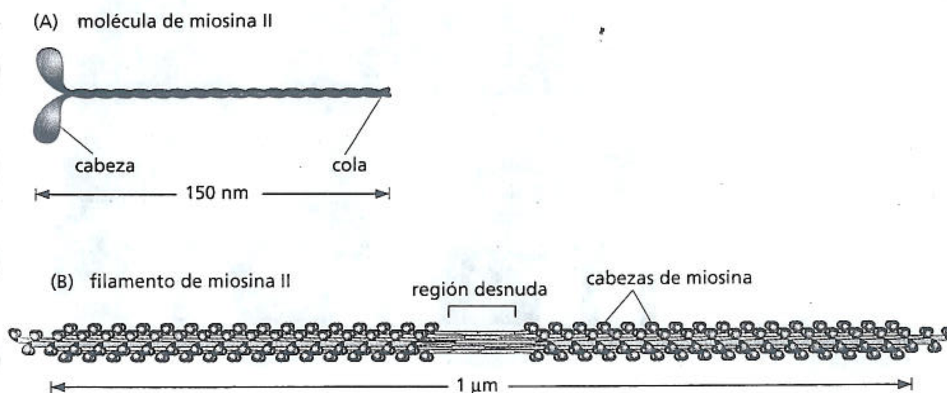


Figura 17-38. Las **moléculas de miosina II se pueden asociar entre sí y formar filamentos de miosina.** (A) Una molécula de miosina II tiene dos cabezas globulares y una cola en espiral. (B). Las colas de las distintas moléculas de miosina II se unen entre sí y forman un filamento de miosina bipolar en el que las cabezas se proyectan hacia afuera en direcciones opuestas desde la parte media del filamento. La región desnuda de la porción media del filamento está compuesta sólo por colas.

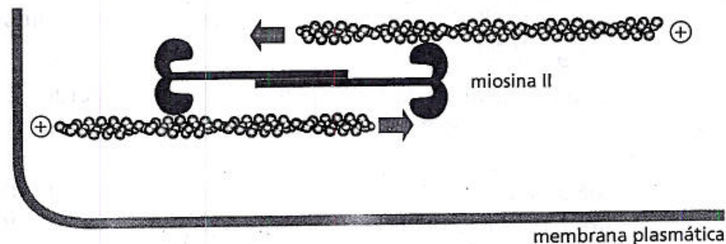


Figura 17-39. Incluso pequeños filamentos bipolares compuestos por moléculas de miosina II pueden inducir el deslizamiento de los filamentos de actina uno sobre otro y, así, mediar el acortamiento local de un haz de filamentos de actina. Al igual que en el caso de la miosina I, la cabeza de la miosina II se desplaza hacia el extremo más del filamento de actina con el que se pone en contacto.

Cada molécula de miosina II es un dímero compuesto por un par de moléculas de miosina idénticas unidas por sus colas. La molécula de miosina II tiene dos cabezas globulares con actividad de ATPasa en uno de sus extremos y una sola cola con disposición en espiral en el extremo opuesto. Los grupos de moléculas de miosina II se unen entre sí por sus colas espiraladas formando un filamento de miosina bipolar, en el que las cabezas se proyectan de cada lado (Fig. 17-38B).

El filamento de miosina es similar a una flecha de dos puntas con dos conjuntos de cabezas que apuntan en direcciones opuestas. Uno de estos conjuntos se une a filamentos de actina en una orientación y los moviliza en un sentido, mientras que el otro conjunto de cabezas se une a filamentos de actina de orientación opuesta y los moviliza en la dirección contraria (Fig. 17-39). El efecto global consiste en el deslizamiento de grupos de filamentos de actina de orientación opuesta entre sí. En consecuencia, si los filamentos de actina y los filamentos de miosina se agrupan formando un fascículo, el haz puede generar una fuerza contráctil. Este fenómeno se aprecia con suma claridad en la contracción muscular, pero también tiene lugar en los *haces contráctiles* de los filamentos de actina y los filamentos de miosina II (véase Fig. 17-28B) que se ensamblan transitoriamente en células no musculares y en el *anillo contráctil* que separa en dos a las células en división al contraerse y traccionar hacia adentro la membrana plasmática (véase capítulo 19).

Durante la contracción muscular los filamentos de actina se deslizan sobre los filamentos de miosina

Las fibras largas de los músculos esqueléticos son células enormes formadas por la fusión de numerosas células más pequeñas. Los núcleos de las células son reteni-

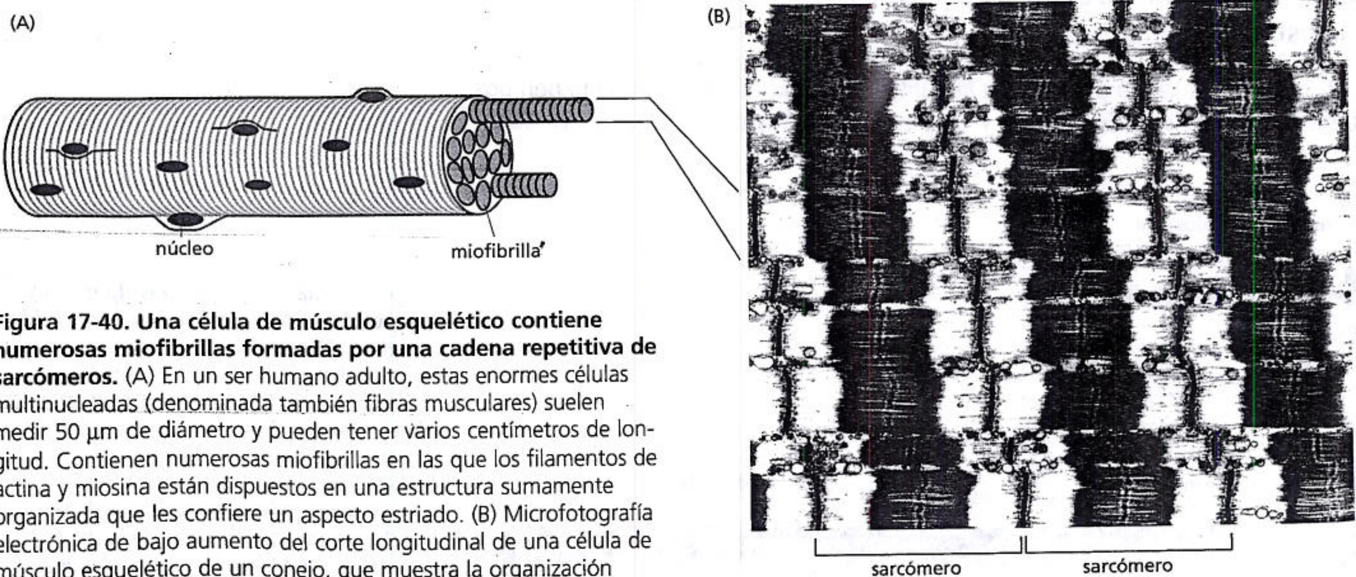


Figura 17-40. Una célula de músculo esquelético contiene numerosas miofibrillas formadas por una cadena repetitiva de sarcómeros. (A) En un ser humano adulto, estas enormes células multinucleadas (denominada también fibras musculares) suelen medir 50 µm de diámetro y pueden tener varios centímetros de longitud. Contienen numerosas miofibrillas en las que los filamentos de actina y miosina están dispuestos en una estructura sumamente organizada que les confiere un aspecto estriado. (B) Microfotografía electrónica de bajo aumento del corte longitudinal de una célula de músculo esquelético de un conejo, que muestra la organización regular de los sarcómeros (las unidades contráctiles de las miofibrillas). (B, cortesía de Roger Craig).

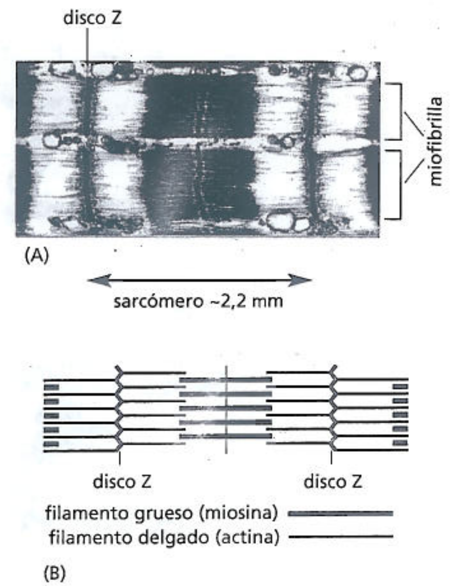


Figura 17-41. Los sarcómeros son las unidades contráctiles del músculo. (A) Imagen detallada de la célula de músculo esquelético de la figura 17-40, que muestra dos miofibrillas e indica la longitud de un sarcómero. (B) Esquema de un sarcómero aislado que ilustra el origen de las bandas claras y oscuras que se observan en el campo microscópico. Los discos Z situados en ambos extremos del sarcómero son puntos de unión para los filamentos de actina; los filamentos gruesos localizados en la parte central *(verde)* están compuestos por muchas moléculas de miosina II. (A, cortesía de Roger Craig).

dos en la fibra muscular y se localizan inmediatamente por debajo de la membrana plasmática. El grueso del citoplasma está constituido por **miofibrillas**, los elementos contráctiles de la célula muscular. Estas estructuras cilíndricas tienen de 1 a 2 μm de diámetro y pueden ser tan largas como la propia célula muscular (Fig. 17-40A).

Cada miofibrilla consiste en una cadena de pequeñas unidades contráctiles idénticas, llamadas **sarcómeros**. Cada sarcómero mide alrededor de 2,5 μm de largo, y el patrón repetitivo de sarcómeros confiere a la miofibrilla de los vertebrados un aspecto de franjas o estriado (Fig. 17-40B). Los sarcómeros son ensamblajes altamente organizados de dos tipos de filamentos: los filamentos de actina y los filamentos de miosina II específica del músculo. Los filamentos de miosina (*filamentos gruesos*) se localizan en la parte central de cada sarcómero, mientras que los filamentos de actina más finos (*filamentos delgados*) se extienden hacia el interior desde ambos extremos del sarcómero (donde están anclados por sus extremos más a una estructura conocida con el nombre de *disco Z*) y se superponen a los extremos de los filamentos de miosina (Fig. 17-41).

La contracción de la célula muscular es causada por el acortamiento simultáneo de todos los sarcómeros que, a su vez, es provocado por el deslizamiento de los

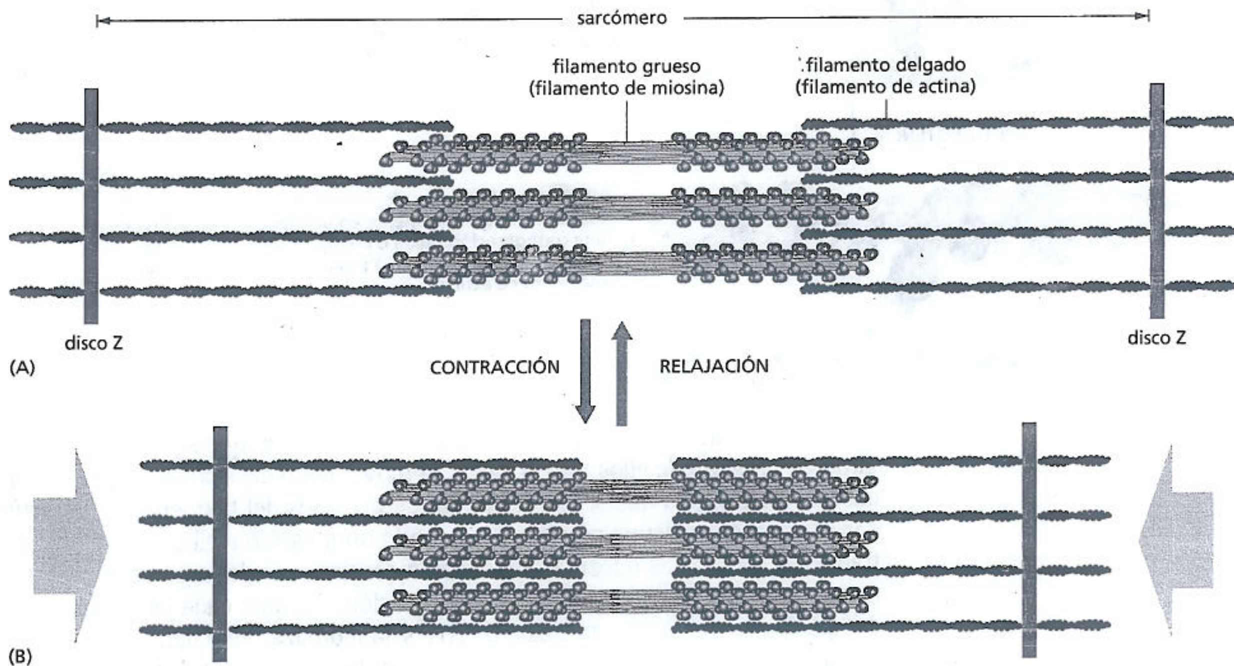
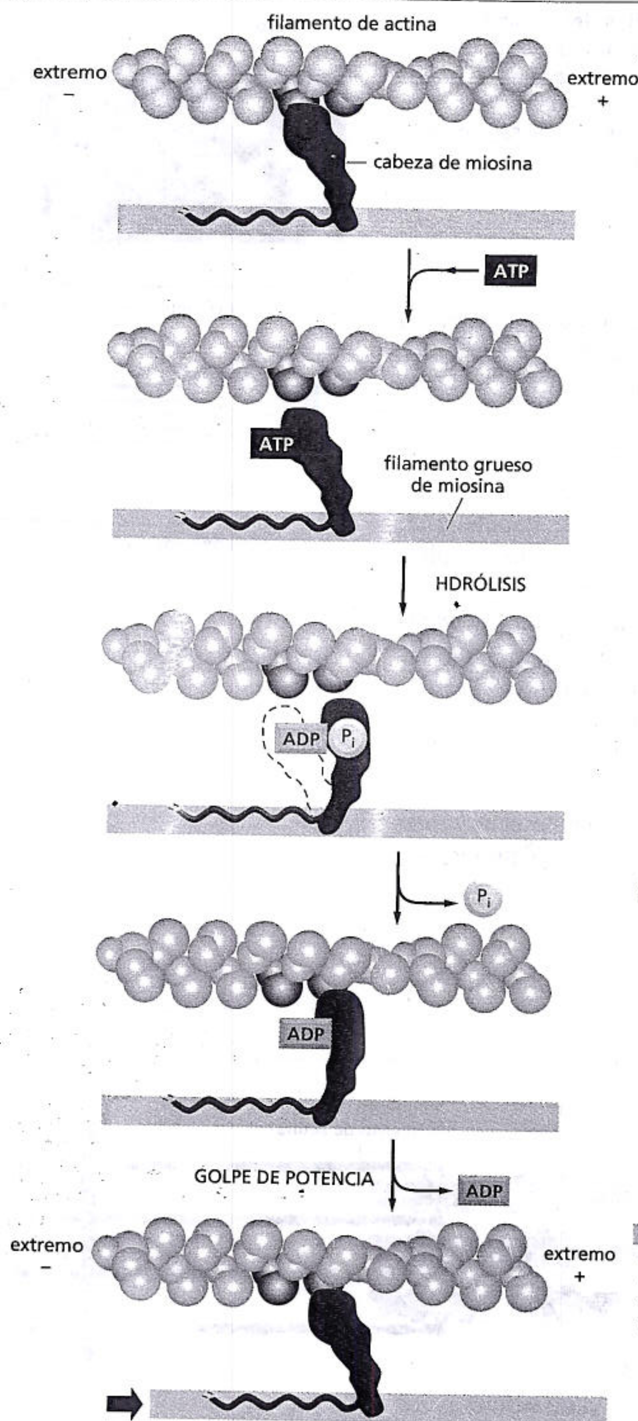


Figura 17-42. Los músculos se contraen por un mecanismo de deslizamiento de filamentos. (A) Los filamentos de miosina y actina de un sarcómero se superponen con la misma polaridad relativa a ambos lados de la línea media. Hay que tener en cuenta que los filamentos de actina están anclados por sus extremos más al disco Z, y que los filamentos de miosina son bipolares. (B) Durante la contracción, los filamentos de actina y de miosina se deslizan unos sobre otros sin acortarse. El movimiento de deslizamiento es impulsado por las cabezas de miosina que se desplazan hacia el extremo más del filamento de actina adyacente (Película 17.8).



UNIÓN. Al comienzo del ciclo ilustrado en esta figura, una cabeza de miosina desprovista de un nucleótido unido se encastra firmemente en un filamento de actina en una configuración rígida o de rigor (llamada así por ser la responsable del *rigor mortis*, la rigidez de la muerte). En un músculo que se contrae en forma activa, este estado tiene una duración muy breve y es interrumpido rápidamente por la unión de una molécula de ATP.

LIBERACIÓN. Una molécula de ATP se une a la gran hendidura situada en la parte "posterior" de la cabeza de miosina (es decir, en el lado más alejado del filamento de actina) e inmediatamente induce un ligero cambio de conformación de los dominios que constituyen el sitio de unión a la actina. Este fenómeno reduce la afinidad de la cabeza de miosina por la actina y le permite desplazarse a lo largo del filamento. (El espacio aquí dibujado entre la cabeza de miosina y la actina hace hincapié en este cambio, aunque en la realidad es probable que la cabeza de miosina permanezca mucho más cerca de la actina).

ENDEREZAMIENTO. La hendidura se cierra como las valvas de una almeja alrededor de la molécula de ATP, lo que desencadena un cambio importante de la forma que induce el desplazamiento de la cabeza de alrededor de 5 nm a lo largo del filamento. Se produce la hidrólisis del ATP, pero el ADP y el fosfato inorgánico (P_i) generados permanecen unidos firmemente a la proteína.

GENERACIÓN DE FUERZA. La unión débil de la cabeza de miosina a un nuevo sitio del filamento de actina causa la liberación del fosfato inorgánico producido por la hidrólisis del ATP, concomitantemente con la unión estrecha de la cabeza de miosina a la actina. Esta liberación desencadena el golpe de potencia, el cambio de forma que genera fuerza y durante el cual la cabeza recupera su conformación original. Durante su transcurso, la cabeza de miosina pierde el ADP unido a ella, lo que remite al comienzo de un nuevo ciclo.

UNIÓN. Al final del ciclo, la cabeza de miosina otra vez está encastrada firmemente en un filamento de actina en una configuración rígida o de rigor. Obsérvese que la cabeza se ha movido a una posición diferente sobre el filamento de actina.

Figura 17-43. Una molécula de miosina se desplaza a lo largo de un filamento de actina en respuesta a cambios estructurales cíclicos. (Basado en I. Rayment y col., *Science* 261:50-58, 1993. Con autorización de la AAAS).

filamentos de actina sobre los filamentos de miosina, sin que se modifique la longitud de ninguno de ellos (Fig. 17-42). El movimiento deslizante es generado por cabezas de miosina que se proyectan desde los lados del filamento e interactúan con filamentos de actina adyacentes. Cuando un músculo recibe un estímulo contráctil, las cabezas de miosina comienzan a desplazarse a lo largo del filamento de actina en ciclos repetidos de unión y separación. Durante cada ciclo, una cabeza de miosina se une a una molécula de ATP y la hidroliza. Esto determina una serie de cambios conformacionales de la molécula de miosina que desplazan el extremo de la cabeza alrededor de 5 nm a lo largo del filamento de actina en la dirección del extremo más. Este movimiento, que se repite con cada ciclo de hidrólisis del ATP, propulsa unidireccionalmente la molécula de miosina a lo largo del filamento de actina (Fig. 17-43). Al hacerlo, la cabeza de miosina tracciona al filamento de actina y lo hace deslizar contra el filamento de miosina. La acción coordinada de muchas cabezas de miosina que traccionan de los filamentos de

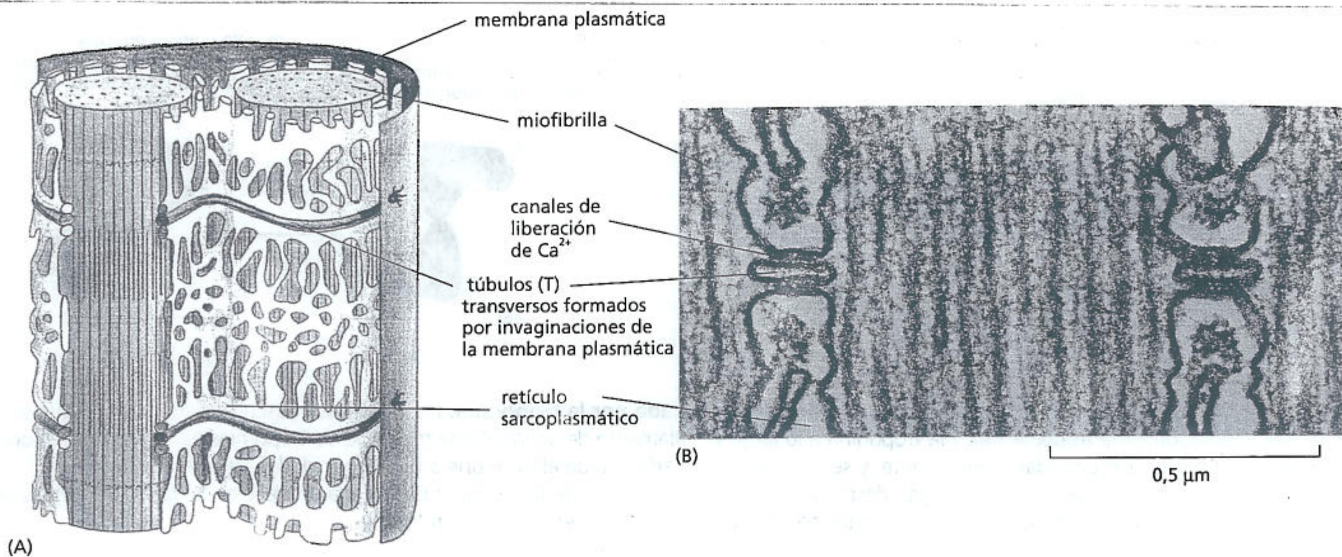


Figura 17-44. **Los túbulos T y el retículo sarcoplasmático rodean a las miofibrillas.** (A) Dibujo de los dos sistemas de membrana que transmiten la señal de contracción desde la membrana plasmática de la célula muscular hacia todas las miofibrillas de la célula. (B) Microfotografía electrónica que ilustra un corte transversal de dos túbulos T y sus compartimientos de retículo sarcoplasmático adyacentes. (B, cortesía de Clara Franzini-Armstrong).

actina y miosina provoca la contracción del sarcómero. Una vez completada la contracción, el contacto entre las cabezas de miosina y los filamentos de actina cesa por completo y el músculo se relaja.

Un filamento de miosina tiene alrededor de 300 cabezas de miosina. Cada cabeza de miosina se puede unir a la actina y separarse de ésta alrededor de 5 veces por segundo, lo que permite que los filamentos de actina y de miosina se deslicen entre sí a una velocidad de hasta 15 μm por segundo. Esta velocidad es suficiente para llevar a un sarcómero de un estado de extensión completa (3 μm) a un estado de contracción completa (2 μm) en menos de una décima de segundo. Todos los sarcómeros de un músculo están acoplados entre sí, y su contracción es desencadenada en forma casi instantánea por el sistema de señales que se describe a continuación. Por lo tanto, todo el músculo se contrae con extrema rapidez, por lo general, en el término de una décima de segundo.

PREGUNTA 17-9

Compare la estructura de los filamentos intermedios con la de los filamentos de miosina II en las células de músculo esquelético. ¿Cuáles son las principales similitudes? ¿Cuáles son las principales diferencias? ¿De qué manera se relacionan las diferencias estructurales con su función?

La contracción muscular es desencadenada por un súbito aumento del nivel de Ca^{2+}

La interacción molecular generadora de fuerza entre los filamentos de actina y de miosina sólo tiene lugar cuando el músculo esquelético recibe una señal proveniente del sistema nervioso. La señal de una terminación nerviosa desencadena un

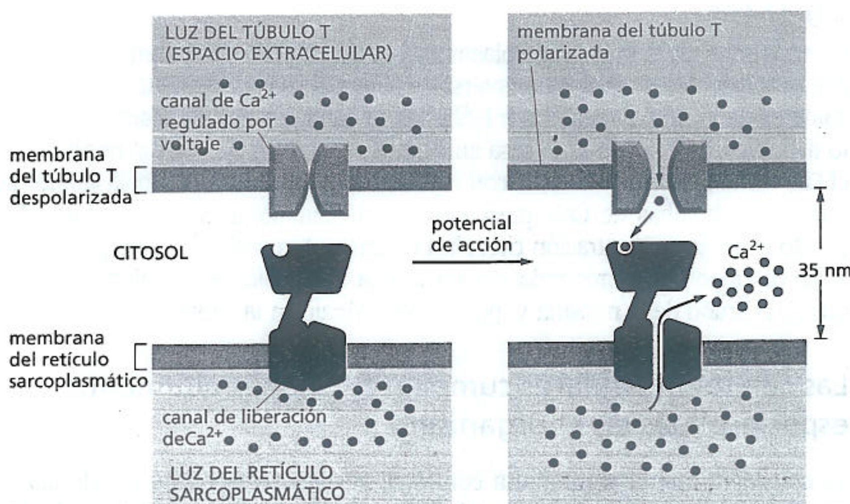


Figura 17-45. **En el músculo esquelético, la contracción implica señalización de Ca^{2+}.** Este esquema muestra cómo un canal liberador de Ca^{2+} presente en la membrana del retículo sarcoplasmático sería abierto por activación de un canal de Ca^{2+} regulado por voltaje de la membrana del túbulo T.

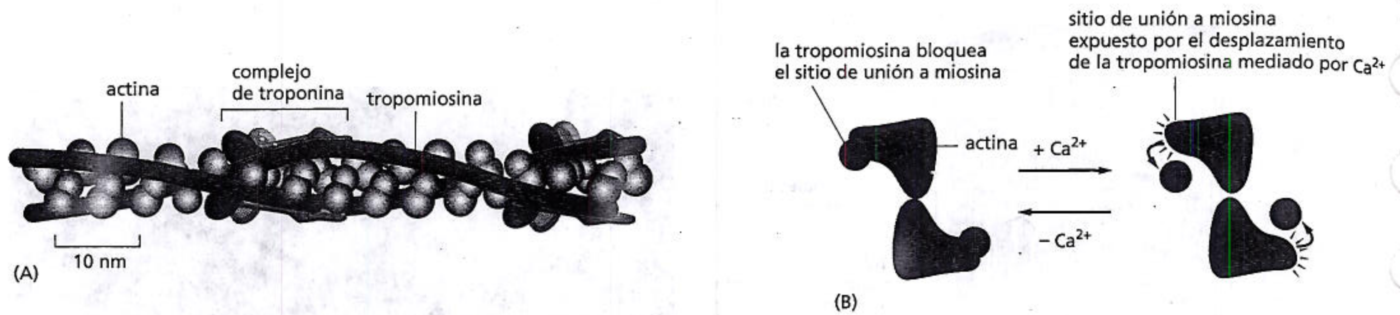


Figura 17-46. La contracción del músculo esquelético es controlada por la troponina. (A) Filamento muscular delgado en el que se muestra la posición de la tropomiosina y la troponina a lo largo del filamento de actina. Cada molécula de tropomiosina tiene siete regiones de secuencias homólogas espaciadas regularmente, y se considera que cada una de ellas se une a una subunidad de actina del filamento. (B) Cuando el Ca^{2+} se une a la troponina, ésta desplaza a la tropomiosina, que de lo contrario bloquea la interacción de la actina con las cabezas de miosina. En este esquema, se muestra el extremo del filamento delgado en una vista frontal.

potencial de acción (véase capítulo 12) en la membrana plasmática de la célula muscular. Esta excitación eléctrica se propaga en cuestión de milisegundos a lo largo de una serie de tubos membranosos, denominados *túbulos transversos* (o *túbulos T*), que se extienden hacia el interior de la célula desde la membrana plasmática alrededor de cada miofibrilla. Después, la señal eléctrica se transmite al *retículo sarcoplasmático*, una vaina adyacente de vesículas aplanadas e interconectadas que rodea a cada miofibrilla como una funda reticular (Fig. 17-44).

En las células musculares, el retículo sarcoplasmático es una región especializada del retículo endoplasmático. Contiene una concentración elevada de Ca^{2+}, y en respuesta a la excitación eléctrica aferente, gran parte de este Ca^{2+} es liberado al citosol a través de canales iónicos que se abren en la membrana del retículo sarcoplasmático como consecuencia del cambio del voltaje a través de la membrana plasmática (Fig. 17-45). Según se expresó en el capítulo 16, el Ca^{2+} es una señal intracelular muy utilizada para transmitir un mensaje desde el medio extracelular hacia la maquinaria interna de la célula. En el músculo, el Ca^{2+} interactúa con un interruptor molecular compuesto por proteínas accesorias especializadas estrechamente asociadas con los filamentos de actina (Fig. 17-46A). Una de estas proteínas es la *tropomiosina*, molécula rígida y bastoniforme que se une al surco de la hélice de actina superponiéndose a siete monómeros de actina, y que impide que las cabezas de miosina se asocien con el filamento de actina. La otra proteína es la *troponina*, complejo proteico que contiene una proteína sensible al Ca^{2+} que se asocia con el extremo de una molécula de tropomiosina. Cuando aumenta el nivel citosólico de Ca^{2+}, éste se une a la troponina e induce un cambio en su conformación que determina, a su vez, que las moléculas de tropomiosina modifiquen ligeramente su posición, lo que permite que las cabezas de miosina se unan al filamento de actina y desencadenen la contracción (Fig. 17-46B).

Como la señal de la membrana plasmática es transmitida en el término de milisegundos (a través de los túbulos transversos y el retículo sarcoplasmático) a todos los sarcómeros de la célula, todas las miofibrillas se contraen simultáneamente. El aumento del nivel citosólico de Ca^{2+} cesa en cuanto se interrumpe la señal nerviosa, ya que el Ca^{2+} es bombeado de nuevo, con rapidez, hacia el retículo sarcoplasmático por las numerosas bombas de Ca^{2+} presentes en su membrana (véase capítulo 12). Tan pronto como la concentración citosólica de Ca^{2+} retorna al nivel de reposo, las moléculas de troponina y tropomiosina vuelven a sus posiciones originales, donde bloquean la unión de la miosina y, por lo tanto, finalizan la contracción.

PREGUNTA 17-10

A. Obsérvese que, en la figura 17-46, las moléculas de troponina están espaciadas de manera uniforme a lo largo de un filamento de actina, con una molécula de troponina cada siete moléculas de actina. ¿Cómo supone que las moléculas de troponina pueden adoptar esta posición tan regular? ¿Qué le dice esto acerca de la unión de la troponina a los filamentos de actina?
B. ¿Qué supone que pasaría si se mezclaran filamentos de actina con (i) troponina sola, (ii) tropomiosina sola o (iii) troponina más tropomiosina, y luego se agregase miosina? ¿Los efectos resultantes serían dependientes del Ca^{2+}?

Las células musculares cumplen funciones altamente especializadas en el organismo

Se considera que la maquinaria contráctil altamente especializada de las células musculares ha evolucionado a partir de haces contráctiles más simples de filamen-

tos de miosina y actina hallados en todas las células eucariontes. La miosina II de las células no musculares también es activada por un aumento del nivel citosólico de Ca^{2+}, pero el mecanismo de activación es bastante diferente. El aumento del Ca^{2+} induce la fosforilación de la miosina II, lo que modifica la conformación de la molécula de miosina y le permite interactuar con la actina. Se observa un mecanismo de activación similar en el *músculo liso*, que se encuentra en las paredes del estómago, el intestino, el útero y las arterias, y en muchas otras estructuras en las que se requieren contracciones lentas y sostenidas. Las contracciones generadas por este segundo mecanismo son más lentas, debido al tiempo que requiere la difusión de las moléculas enzimáticas hasta las cabezas de miosina para catalizar la fosforilación o la desfosforilación. No obstante, este mecanismo tiene la ventaja de ser menos especializado y de ser impulsado por señales de entrada diversas; por ejemplo, la contracción del músculo liso puede ser desencadenada por adrenalina, serotonina, prostaglandinas y otras señales extracelulares.

Además de los músculos lisos y esqueléticos, hay otras variedades de músculo que cumplen funciones mecánicas específicas en el organismo. Quizá el más familiar sea el *músculo cardíaco*, que impulsa la circulación de la sangre. Este órgano notable se contrae en forma autónoma durante toda la vida del organismo, alrededor de 3 mil millones de veces [3×10^9] en un ser humano (Película 17.11). Incluso cambios sutiles de la actina y la miosina del músculo cardíaco pueden provocar una enfermedad cardíaca grave. Por ejemplo, las mutaciones de la miosina y otras proteínas contráctiles cardíacas causan miocardiopatía hipertrófica familiar, un trastorno hereditario responsable de la muerte súbita de deportistas jóvenes.

La contracción de las células musculares representa un uso sumamente especializado de los componentes básicos del citoesqueleto de las células eucariontes. En los capítulos siguientes, se considera cómo participa el citoesqueleto del movimiento celular quizá más fundamental: la formación de dos células hijas durante el proceso de división celular.

CONCEPTOS ESENCIALES

- El citoplasma de una célula eucarionte es sostenido y organizado espacialmente por un citoesqueleto de filamentos intermedios, microtúbulos y filamentos de actina.
- Los filamentos intermedios son polímeros estables, cordiformes, compuestos por proteínas fibrosas que confieren resistencia mecánica a las células. Algunos tipos de filamentos intermedios se localizan inmediatamente por debajo de la membrana nuclear para formar la lámina nuclear, mientras que otros se distribuyen por todo el citoplasma.
- Los microtúbulos son tubos huecos y rígidos formados por la polimerización de subunidades de dímeros de tubulina. Son estructuras polarizadas con un extremo - de crecimiento lento y un extremo + de crecimiento rápido.
- Los microtúbulos se nuclean en centros organizadores, como los centrosomas, y crecen a partir de ellos. Los extremos - de los microtúbulos están incluidos en el centro organizador.
- Muchos de los microtúbulos de una célula se encuentran en un estado dinámico lábil, que alternan entre una estado de crecimiento y un estado de retracción. Estas transiciones, conocidas como inestabilidad dinámica, son controladas por la hidrólisis del GTP unido a los dímeros de tubulina.
- Cada dímero de tubulina tiene una molécula de GTP estrechamente unida que es hidrolizada a GDP después de que la tubulina se ensambla en un microtúbulo. La hidrólisis del GTP disminuye la afinidad de la subunidad por sus vecinas y reduce la estabilidad del polímero, lo que determina su desensamblaje.
- Los microtúbulos pueden ser estabilizados por proteínas que capturan el extremo más, proceso que influye en la disposición de los microtúbulos de la célula. Las células contienen numerosas proteínas asociadas a los microtúbulos que los estabilizan, los unen a otros componentes de la célula y los refuerzan con lo que cumplen funciones específicas.

- Las cinesinas y las dineínas son proteínas motoras que con la energía derivada de la hidrólisis del ATP se desplazan en forma unidireccional a lo largo de los microtúbulos. Estas proteínas transportan vesículas de membrana específicas y otros materiales y, de esta manera, ayudan a mantener la organización espacial del citoplasma.
- Los cilios y los flagelos de las células eucariontes contienen un haz de microtúbulos estables. El movimiento de estas estructuras es provocado por la incurvación de los microtúbulos impulsada por una proteína llamada dineína ciliar.
- Los filamentos de actina son polímeros helicoidales de moléculas de actina. Tienen más flexibilidad que los microtúbulos y, por lo general, se disponen en haces o redes.
- Los filamentos de actina son estructuras polarizadas con un extremo de crecimiento lento y un extremo de crecimiento rápido, y su ensamblaje y desensamblaje son controlados por la hidrólisis del ATP estrechamente unido a cada monómero de actina.
- Las diversas formas y funciones de los filamentos de actina de las células dependen de numerosas proteínas fijadoras de actina. Estas proteínas controlan la polimerización de los filamentos de actina, los unen mediante enlaces cruzadas formando redes laxas o haces rígidos, los fijan a las membranas o los desplazan respecto de otros.
- Una red concentrada de filamentos de actina subyacente a la membrana plasmática forma la corteza celular y es responsable de la forma y el movimiento de la superficie celular, como los movimientos que efectúa una célula cuando se desliza sobre una superficie.
- Las miosinas son proteínas motoras que utilizan la energía derivada de la hidrólisis del ATP en el desplazamiento a lo largo de filamentos de actina: pueden transportar orgánulos a lo largo de carriles formados por filamentos de actina o hacer que los filamentos de actina vecinos se deslicen unos sobre otros en los haces contráctiles.
- En el músculo, haces muy voluminosos de filamentos de actina y miosina regulares generan contracciones al deslizarse unos sobre otros.
- La contracción muscular es desencadenada por un aumento súbito del nivel citosólico de Ca^{2+}, que genera una señal que se transmite al aparato contráctil mediante proteínas de unión a Ca^{2+}.

PALABRAS CLAVE

centriolo
centrosoma
cilio
cinesina
citoesqueleto
corteza celular
dineína
familia de proteínas Rho
filamento de actina
filamento intermedio
filopodio
flagelo
inestabilidad dinámica
lamelipodio
lámina nuclear
microtúbulo
miofibrilla
miosina
polaridad
proteína motora
sarcómero
tubulina

PREGUNTAS

PREGUNTA 17-11

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. La cinesina desplaza las membranas del retículo endoplasmático (RE) a lo largo de los microtúbulos, de manera que los túbulos del RE se estiran por toda la célula.

B. En ausencia de actina, las células pueden formar un huso mitótico funcional y separar sus cromosomas, pero son incapaces de dividirse.

C. Los lamelipodios y los filopodios representan "antenas"

que la célula extiende para hallar puntos de anclaje en el sustrato sobre el que se deslizará.

D. El GTP es hidrolizado por la tubulina para inducir la incurvación de los flagelos.

E. Las células con una red de filamentos intermedios que no pueden despolarizarse morirían.

F. Los extremos + de los microtúbulos crecen con mayor rapidez porque tienen un casquete de GTP de mayor tamaño.

G. Los túbulos transversos de las células musculares representan una extensión de la membrana plasmática con la que se continúan; de modo similar, el retículo sarcoplasmático es una extensión del retículo endoplasmático.

H. La activación del deslizamiento de la miosina sobre los filamentos de actina es desencadenada por la fosforilación de la troponina, en algunos casos, y por la unión de Ca^{2+} a la troponina, en otros.

PREGUNTA 17-12

El tiempo promedio que una molécula o un orgánulo tarda en difundir a través a una distancia de x cm está dado por la fórmula

$$t = x^2/2D$$

donde t es el tiempo en segundos, y D, una constante conocida como coeficiente de difusión de la molécula o la partícula. Utilizando la fórmula previa, calcule el tiempo necesario para que una molécula pequeña, una proteína y una vesícula de membrana difundan de un lado a otro de una célula de 10 µm. Los coeficientes de difusión típicos en unidades de cm^2/seg son los siguientes: molécula pequeña, 5×10^{-6}; molécula proteica, 5×10^{-7}; y vesícula, 5×10^{-8}. ¿Cuánto tardará una vesícula de membrana en alcanzar el extremo de un axón de 10 cm de largo por difusión libre?

PREGUNTA 17-13

¿Por qué las células eucariontes, y sobre todo las células animales, tienen citoesqueletos tan grandes y complejos? Mencione las diferencias entre células animales y bacterias que dependan del citoesqueleto eucarionte.

PREGUNTA 17-14

Examine la estructura del filamento intermedio ilustrado en la figura 17-3. ¿El filamento tiene una polaridad única? Es decir, ¿se puede diferenciar un extremo del otro mediante un medio químico o de otro tipo? Fundamente su respuesta.

PREGUNTA 17-15

No existen proteínas motoras responsables de los movimientos de los filamentos intermedios. Sugiera una explicación para este fenómeno.

PREGUNTA 17-16

Cuando las células entran en mitosis, el sistema de microtúbulos citoplasmáticos debe ser rápidamente degradado y reemplazado por el huso mitótico que se forma para traccionar los cromosomas hacia las células hijas. La enzima catanina, llamada así por su analogía con los sables samurai japoneses, es activada durante el comienzo de la mitosis y secciona los microtúbulos en fragmentos cortos. ¿Cuál supone que es el destino probable de los fragmentos de microtúbulos creados por la catanina? Fundamente su respuesta.

PREGUNTA 17-17

El fármaco taxol, que se extrae de la corteza del tejo, ejerce un efecto opuesto al de la colchicina, un alcaloide del azafrán. El taxol se une firmemente a los microtúbulos y los estabiliza; cuando es agregado a las células, determina que gran parte de la tubulina libre se acople a los microtúbulos. Por el contrario, la colchicina impide la formación de microtúbulos. El taxol es tan nocivo como la colchicina para las células en división, y ambos se utilizan como fármacos antineoplásicos. Sobre la base de sus conocimientos de la dinámica de los microtúbulos, exponga las razones por las cuales son tóxicos para las células en división a pesar de sus efectos opuestos.

PREGUNTA 17-18

Una técnica útil para estudiar las proteínas motoras de los microtúbulos consiste en unirlas por sus colas a un cubreobjetos de vidrio (lo que se puede hacer con bastante facilidad, ya que las colas se adhieren con avidez a una superficie de vidrio limpia) y, luego, permitir que los microtúbulos sedimenten. Después, se pueden examinar los microtúbulos con el microscopio óptico mientras son propulsados sobre la superficie del cubreobjetos por las cabezas de las proteínas motoras. Sin embargo, como las proteínas motoras se unen al cubreobjetos en orientaciones aleatorias, ¿cómo es posible que generen un movimiento coordinado de los microtúbulos en lugar de traccionar en direcciones opuestas? ¿En qué dirección reptarán los microtúbulos sobre un 'lecho' de moléculas de cinesina (es decir, moverán primero el extremo más o el extremo menos)?

PREGUNTA 17-19

La figura P17-9 ilustra la evolución cronológica típica de la tubulina purificada para formar microtúbulos.

A. Explique los distintos segmentos de la curva (designados A, B y C). Dibuje un esquema que muestre el comportamiento de las moléculas de tubulina en cada una de las tres fases.

B. ¿Cómo se modificaría la curva de la figura si se agregasen centrosomas desde el comienzo?

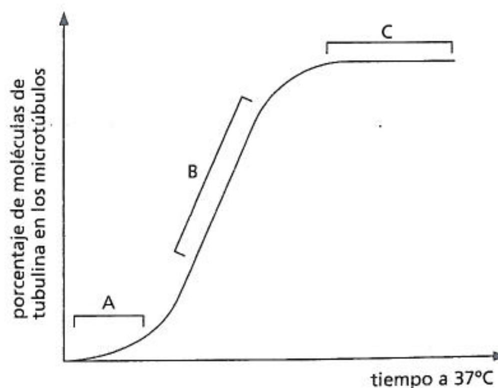


Figura P17-19

PREGUNTA 17-20

La microfotografía electrónica ilustrada en la figura P17-20A fue obtenida de una población de microtúbulos que crecían rápidamente. La figura P17-20B fue obtenida de microtúbulos que estaban en una fase de retracción "catastrófica". Comente las diferencias entre A y B, y sugiera explicaciones probables de las diferencias observadas.

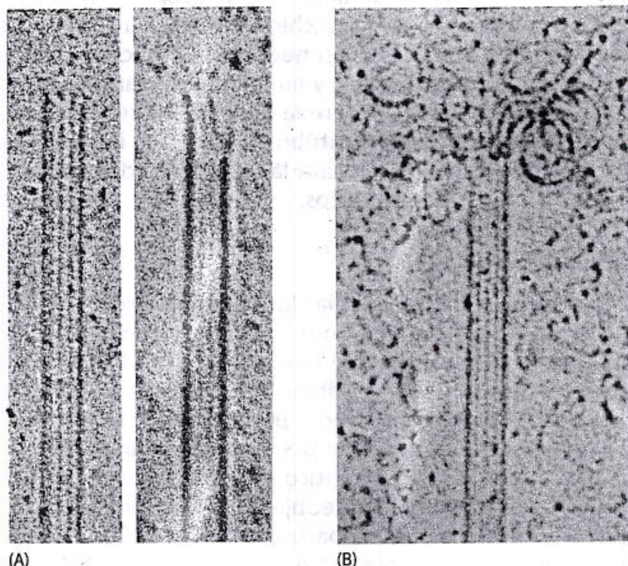


Figura P17-20

PREGUNTA 17-21

La locomoción de los fibroblastos en cultivo es interrumpida de inmediato por la citocalasina, mientras que la colchicina determina que los fibroblastos dejen de moverse direccionalmente y comiencen a proyectar lamelipodios en direcciones en apariencia aleatorias. La inyección de fibroblastos con anticuerpos contra la vimentina no ejerció ningún efecto discernible sobre su migración. ¿Qué le sugieren estas observaciones respecto de la participación de los tres tipos de filamentos citoesqueléticos en la locomoción de los fibroblastos?

PREGUNTA 17-22

Complete correctamente la siguiente oración y fundamente la aceptación o el rechazo de las cuatro frases (puede haber más de una correcta). La función del calcio durante la contracción muscular es la siguiente:

A. Separar las cabezas de miosina de la actina.

B. Propagar el potencial de acción desde la membrana plasmática hacia la maquinaria contráctil de la célula.

C. Unirse a la troponina, hacer que la troponina desplace a la tropomiosina, lo que expone los filamentos de actina a las cabezas de miosina.

D. Mantener la estructura del filamento de miosina.

PREGUNTA 17-23

¿Cuáles de las siguientes modificaciones se producen durante la contracción de un músculo esquelético?

A. Los discos Z se alejan.

B. Los filamentos de actina se contraen.

C. Los filamentos de miosina se contraen.

D. Los sarcómeros se acortan.

CAPÍTULO **DIECIOCHO** 18

Ciclo de división celular

"Para que surja una célula debe haber una preexistente, así como los animales sólo pueden nacer de otros animales, y los vegetales de otros vegetales". Esta *doctrina celular*, propuesta por el anatomopatólogo alemán Rudolf Virchow en 1858, transmitía un mensaje de continuidad de la vida. Las células son generadas por otras células, y la única manera de producir más células es por la división de las que ya existen. Se considera que todos los organismos vivos, de una bacteria unicelular a un mamífero pluricelular, son productos de ciclos repetidos de crecimiento y división celular que se remontan a los comienzos de la vida hace más de tres mil millones de años.

Una célula se reproduce mediante una secuencia ordenada de acontecimientos en los que duplica su contenido y, luego, se divide en dos. Este ciclo de duplicación y división, conocido como **ciclo celular**, es el mecanismo esencial de reproducción de todos los seres vivos. Los detalles del ciclo celular varían en los distintos organismos y en diferentes momentos de la vida de un organismo dado. En los organismos unicelulares, como bacterias y levaduras, cada división celular produce un organismo nuevo completo, mientras que se requieren muchas rondas de división celular para crear un organismo pluricelular nuevo a partir de un oocito fecundado. Sin embargo, ciertas características del ciclo celular son universales, pues permiten que todas las células realicen su tarea fundamental: copiar y transmitir su información genética a la próxima generación de células. Para producir dos células hijas genéticamente idénticas es necesaria la replicación fiel del DNA en cada cromosoma, y después, los cromosomas replicados deben ser distribuidos o *segregados* con exactitud en las dos células hijas, de manera que cada célula reciba una copia completa de todo el genoma (Fig. 18-1). La mayoría de las células también duplican sus otras macromoléculas y orgánulos, y alcanzan el doble de su tamaño antes de dividirse; de lo contrario, se volverían cada vez más pequeñas con cada división. Por lo tanto, para mantener su tamaño, las células en división deben coordinar el crecimiento con la división.

En consecuencia, para explicar la reproducción celular, se deben considerar tres preguntas importantes: (1) ¿cómo duplican las células su contenido? (2) ¿cómo realizan la partición del contenido duplicado y lo dividen en dos? y (3) ¿cómo coor-

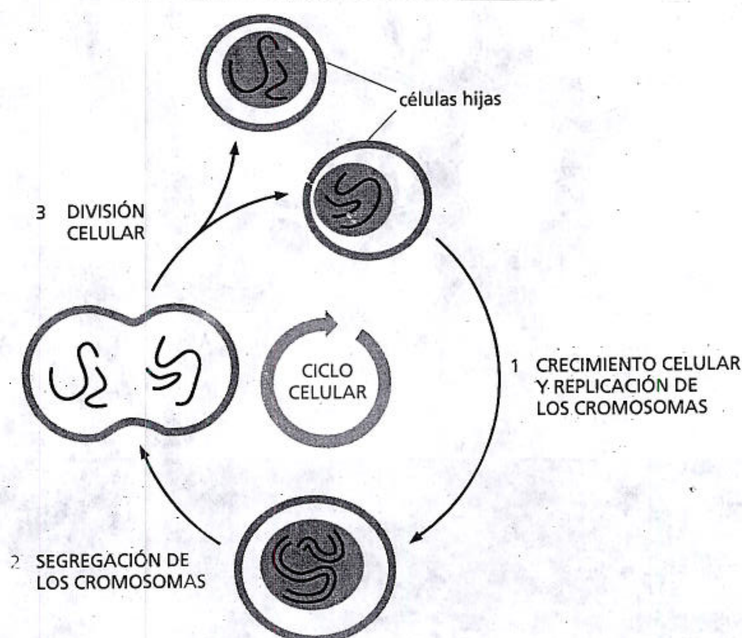


Figura 18-1. Las células se reproducen por duplicación de su contenido y bipartición, proceso denominado ciclo de división celular o ciclo celular. Se ilustra la división de una célula eucarionte hipotética con dos cromosomas para mostrar cómo se producen dos células hijas genéticamente idénticas en cada ciclo. Cada célula hija se puede dividir otra vez mediante otro ciclo celular.

PREGUNTA 18-1

Considere la siguiente afirmación: "Todas las células actuales derivan de una serie ininterrumpida de divisiones celulares que se remontan al momento de la primera división celular". ¿Esta afirmación es estrictamente verdadera?

dinan toda la maquinaria necesaria para estos dos procesos? La primera pregunta se considera en otra parte de este libro: en el capítulo 6, se analiza la replicación del DNA, y en los capítulos 7, 11, 15 y 17 se describe cómo las células eucariontes elaboran otros componentes celulares como proteínas, membranas, orgánulos y filamentos citoesqueléticos. En este capítulo, tratamos la segunda y la tercera preguntas: cómo una célula eucarionte segrega su contenido duplicado y produce dos células hijas y cómo coordina los diversos pasos de este ciclo reproductor.

Se comienza con un repaso de los eventos que tienen lugar durante el ciclo celular. Después, se describe el complejo sistema de proteínas reguladoras denominadas *sistema de control del ciclo celular*, que ordena y coordina estos fenómenos garantizando que se produzcan en la secuencia correcta. A continuación, se analizan en detalle las principales etapas del ciclo celular, en las que se duplican los cromosomas, y después se los segrega en las dos células hijas. Al final del capítulo, se considera cómo regula un animal el tamaño y el número de células, y por ende, el tamaño del organismo y sus órganos: se describe cómo los animales eliminan las células no deseadas mediante una forma de muerte celular programada, denominada *apoptosis*, y luego se analiza cómo las señales extracelulares controlan la supervivencia, el crecimiento y la división de las células.

GENERALIDADES ACERCA DEL CICLO CELULAR

La función básica del ciclo celular es duplicar en forma exacta la gran cantidad de DNA cromosómico y, después distribuir las copias en células hijas genéticamente idénticas. La duración del ciclo celular varía mucho en los distintos tipos celulares. Una levadura unicelular se puede dividir cada dos horas, más o menos, en condiciones ideales, mientras que una célula hepática de mamífero se divide, en promedio, menos de una vez por año (**cuadro 18-1**). Se considerará sucintamente la secuencia de fenómenos que tienen lugar en una célula de mamífero que presenta división rápida (proliferación). Después, se presenta el sistema de control del ciclo celular que asegura que los diversos procesos del ciclo se produzcan en la secuencia y en el momento correcto.

El ciclo celular de las células eucariontes se divide en cuatro fases

Cuando se examina la célula con un microscopio, los dos acontecimientos más notables del ciclo son la división nuclear, proceso denominado *mitosis*, y la divi-

CUADRO 18-1. DURACIÓN DEL CICLO CELULAR EN ALGUNOS EUCARIONTES

TIPO CELULAR	DURACIÓN DEL CICLO CELULAR
Células de embrión de rana en una fase evolutiva temprana	30 minutos
Células de levadura	1,5-3 horas
Células del epitelio intestinal de mamíferos	~12 horas
Fibroblastos de mamíferos en cultivo	~ 20 horas
Células hepáticas humanas	~ 1 año

sión de la célula en dos, proceso denominado *citocinesis*. En conjunto, estos dos procesos constituyen la **fase M** del ciclo celular. En una célula de mamífero típica, toda la fase M dura alrededor de una hora, lo que representa sólo una pequeña fracción del tiempo total del ciclo celular.

El período entre una fase M y la siguiente se denomina **interfase**. En el examen microscópico, se obtiene la falsa impresión de que es un intervalo tranquilo en el que la célula sólo aumenta de tamaño. Sin embargo, la interfase es un período muy activo que comprende las tres fases restantes del ciclo celular. Durante la **fase S** (S = síntesis), la célula replica su DNA nuclear, un prerrequisito esencial para la división celular. La fase S es precedida y seguida, respectivamente, de dos fases en las que la célula continúa su crecimiento. La **fase G_1** (G = gap [intervalo]) es el tiempo que media entre el final de la fase M y el comienzo de la fase S. La fase G_2 es el período entre el final de la fase S y el comienzo de la fase M (Fig. 18-2). Durante estas fases de intervalos, la célula controla los ambientes intracelular y extracelular asegurándose que las condiciones sean adecuadas y de que se hayan completado los preparativos antes de encarar las complejas tareas de la fase S y la mitosis. En determinados puntos de G_1 y G_2, la célula decide si pasa a la fase siguiente o hace una pausa que le permita tener más tiempo para prepararse.

Durante toda la interfase, continúa la transcripción de genes, la síntesis de proteínas y el crecimiento de la masa celular. En conjunto, las fases G_1 y G_2 permiten ganar tiempo para que la célula crezca y duplique los orgánulos citoplasmáticos; si la interfase durara sólo lo necesario para la replicación del DNA, la célula no tendría tiempo de duplicar su masa antes de dividirse y, en consecuencia, disminuiría de tamaño con cada división. De hecho, esto es lo que sucede en ciertas circunstancias especiales. Por ejemplo, en algunos embriones animales, las primeras divisiones celulares después de la fecundación permiten que se divida un cigoto gigante en numerosas células más pequeñas con la mayor rapidez posible. En estos ciclos celulares embrionarios, las fases G_1 y G_2 están acortadas de manera sustancial y las células no aumentan de tamaño antes de dividirse.

Tras la replicación del DNA en la fase S, las dos copias de cada cromosoma permanecen estrechamente unidas entre sí. El primer signo visible de que una célula está a punto de ingresar en la fase M es la *condensación* progresiva de sus cromosomas. A medida que procede la condensación, los cromosomas replicados se

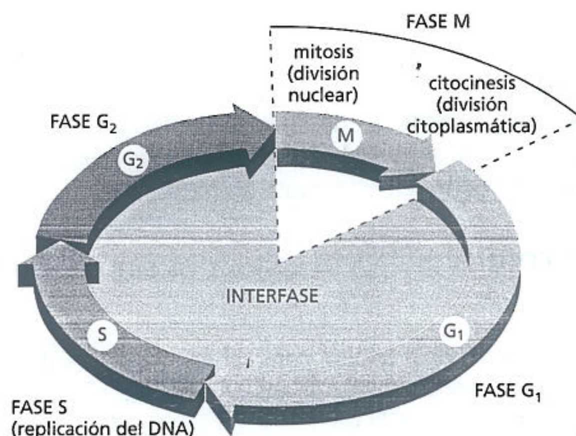
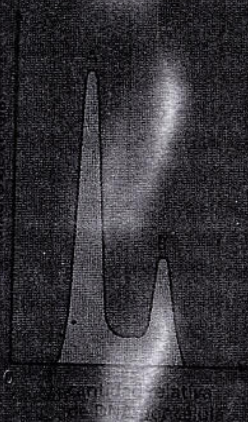


Figura 18-2. El ciclo celular se divide en cuatro fases. Las células crecen continuamente durante la interfase, que comprende tres fases: G_1, S y G_2. La replicación del DNA se limita a la fase S. G_1 es el intervalo entre la fase M y la fase S, y G_2 es el intervalo entre la fase S y la fase M. Durante la fase M, se divide primero el núcleo y, luego, el citoplasma.

PREGUNTA 18-2

Una población de células en proliferación se tiñe con un colorante que se torna fluorescente cuando se une al DNA, de modo que la magnitud de la fluorescencia es directamente proporcional a la cantidad de DNA de cada célula. Para medir la cantidad de DNA de cada célula, se hacen pasar las células a través de un citómetro de flujo, un instrumento que mide el grado de fluorescencia de cada célula. En el gráfico de esta figura, se representa la cantidad de células con un determinado contenido de DNA.



Indique en el gráfico dónde esperaría encontrar células que estén en las siguientes etapas del ciclo celular: G_1, S, G_2 y mitosis. ¿Cuál es la fase más larga del ciclo celular en esta población de células?

visualizan primero con el microscopio óptico como hebras largas, que se tornan gradualmente más cortas y gruesas. Esta condensación reduce la probabilidad de que los cromosomas se entrelacen, lo que facilita su segregación en las dos células hijas durante la mitosis.

Un sistema de control del ciclo celular desencadena los principales procesos del ciclo celular

En la replicación de todo el DNA y orgánulos de las células eucariontes, y la división en forma ordenada, participa una compleja red de proteínas reguladoras conocidas como *sistema de control del ciclo celular*. Este sistema garantiza que los acontecimientos del ciclo celular –replicación del DNA, mitosis, etc.– tengan lugar en una secuencia establecida y que cada proceso se haya completado antes de que comience el siguiente. El propio sistema de control es regulado en determinados puntos críticos del ciclo mediante retroalimentación del proceso que se está llevando a cabo. Sin este tipo de retroalimentación, una interrupción o una demora en cualquiera de los procesos podría ser desastrosa. Por ejemplo, se debe replicar todo el DNA nuclear antes de que el núcleo empiece a dividirse, lo que significa que una fase S completa debe preceder a la fase M. Si la síntesis de DNA se enlentece o se atasca, también se deben demorar la mitosis y la división celular. De modo similar, si hay daño del DNA, el ciclo se debe detener en G_1, S o G_2, de manera que la célula pueda reparar el daño, antes de que se inicie o se complete la replicación del DNA o antes de que la célula ingrese en la fase M. El sistema de control del ciclo celular logra todo esto mediante frenos moleculares que pueden detener el ciclo en diversos **puntos de control**. Así, el sistema de control no desencadena el siguiente paso, a menos que la célula esté correctamente preparada.

La **figura 18-3** ilustra tres puntos de control de la progresión del ciclo celular. Un punto de control actúa en G_1 y permite que la célula corrobore que el medio es favorable para su proliferación antes de dedicarse a la fase S. En los animales, la proliferación celular requiere nutrientes y moléculas de señalización específicas del medio extracelular; si las condiciones extracelulares son desfavorables, las células pueden retardar el progreso a través de G_1 e, incluso, pueden ingresar en un estado de reposo especializado denominado G_0 (G cero). Muchas células, como las células nerviosas y las células de músculo esquelético, permanecen en G_0 durante toda la vida del organismo. Otro punto de control opera en G_2 y garantiza que las células no ingresen en la fase de mitosis hasta que no se haya reparado el DNA dañado y se haya completado la replicación del DNA. Un tercer punto de control actúa durante la mitosis y garantiza que los cromosomas replicados estén unidos apropiadamente a la maquinaria citoesquelética, denominada *huso mitótico*, antes de que éste separe los cromosomas y los distribuya en las dos células hijas.

El punto de control de G_1 tiene especial importancia como punto del ciclo celular donde el sistema de control puede ser regulado por señales de otras células. En un animal pluricelular, el sistema de control responde mucho a señales de otras células que estimulan la división celular cuando se necesitan más células y la bloquean en caso contrario. Por lo tanto, el sistema de control desempeña un papel central en la regulación del número de células de los tejidos del organismo; si el sistema funciona mal y permite que la división celular sea excesiva, puede aparecer cáncer. Más adelante, se considerará cómo influyen las señales extracelulares en las decisiones tomadas en este punto de control.

El sistema de control del ciclo celular es similar en todos los eucariontes

Algunas características del ciclo celular, como el tiempo requerido para completar ciertos acontecimientos, varía mucho de un tipo celular a otro, aun dentro del mismo organismo. Sin embargo, la organización básica del ciclo es esencialmen-

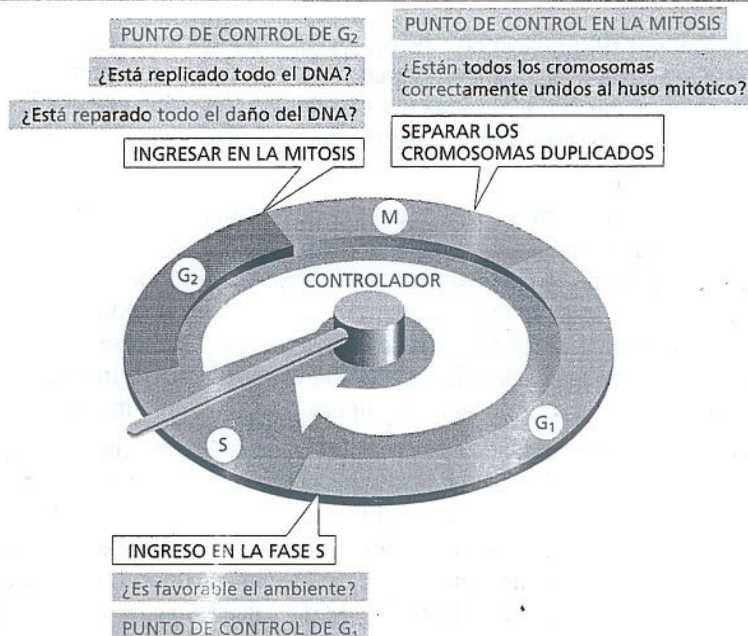


Figura 18-3. Los puntos de control del ciclo celular garantizan que los procesos clave tengan lugar en la secuencia apropiada. Se muestra el sistema de control del ciclo celular como un brazo controlador que rota en sentido horario y desencadena procesos esenciales cuando alcanza determinados puntos del dial externo. Estos procesos comprenden la replicación del DNA en la fase S y la segregación de los cromosomas duplicados en la mitosis. La retroalimentación de los fenómenos intracelulares del ciclo celular, así como las señales del medio de la célula, determinan si el ciclo progresará más allá de ciertos puntos de control. Se destacan tres puntos de control: el punto de control de G_1 determina si la célula avanza a la fase S; el de G_2, si la célula procede a la mitosis; y el de la fase M, si la célula está preparada para separar los cromosomas duplicados y segregarlos en las dos nuevas células hijas.

la misma en todas las células eucariontes, y todos los eucariontes parecen usar maquinaria y mecanismos de control similares para impulsar y regular los fenómenos del ciclo celular. Las proteínas del sistema de control del ciclo celular aparecieron por primera vez hace más de mil millones de años y se han conservado tan bien durante el curso de la evolución que muchas de ellas funcionan perfectamente cuando se las transfiere de una célula humana a una levadura (Biología experimental, pp. 15-16).

Dada esta similitud, los biólogos pueden estudiar el ciclo celular y su regulación en diversos organismos, y utilizar los hallazgos de todos ellos para ensamblar un cuadro unificado de la división celular en eucariontes. Muchos descubrimientos sobre el ciclo celular provinieron de la investigación sistemática de mutaciones que desactivan componentes esenciales del sistema de control del ciclo celular en levaduras. Estudios de células de mamífero cultivadas y de embriones animales también han sido útiles para examinar los mecanismos moleculares que rigen el control de la proliferación celular en organismos pluricelulares.

SISTEMA DE CONTROL DEL CICLO CELULAR

En la división celular participan dos tipos de maquinarias: una fabrica los nuevos componentes de la célula en crecimiento y la otra los transporta a los lugares correctos y los separa en forma adecuada cuando la célula se divide en dos. El **sistema de control del ciclo celular** activa y desactiva esta maquinaria en los momentos apropiados, con lo que coordina los diversos pasos del ciclo. El centro del sistema de control del ciclo celular es una serie de interruptores bioquímicos que operan en una secuencia definida y coordinan los principales eventos del ciclo, como la replicación del DNA y la segregación de los cromosomas duplicados. En esta sección, se repasan los componentes proteicos del sistema de control y se analiza cómo actúan juntos desencadenando las diferentes fases del ciclo.

El sistema de control del ciclo celular depende de proteincinasas de activación cíclica

El sistema de control del ciclo celular gobierna la maquinaria del ciclo celular mediante la activación y la desactivación cíclicas de proteínas y complejos proteicos clave que inician o regulan la replicación del DNA, la mitosis y la citocinesis. Como se analiza en el capítulo 4, la fosforilación seguida de desfosforilación es uno de los métodos más comunes por el que las células estimulan o inhiben la



Figura 18-4. La progresión a lo largo del ciclo celular está a cargo de proteincinasas dependiente de ciclinas (Cdk). Una Cdk se debe unir a una proteína reguladora, denominada ciclina, antes de poder adquirir actividad enzimática. El complejo ciclina-Cdk activo fosforila proteínas clave de la célula que son necesarias para que se desencadenen determinados pasos del ciclo celular. La ciclina también contribuye a dirigir la Cdk hacia las proteínas diana que fosforila.

actividad de una proteína (véase Fig. 4-38), y el sistema de control del ciclo celular utiliza este mecanismo de manera reiterada. Las reacciones de fosforilación que controlan el ciclo celular son realizadas por un conjunto específico de proteincinasas, mientras que la desfosforilación depende de un grupo de proteinfosfatasas.

Las proteincinasas que constituyen la parte central del sistema de control del ciclo celular se encuentran presentes durante todo el ciclo celular en las células en proliferación. Sin embargo, estas proteínas sólo son activadas en momentos oportunos del ciclo, después de lo cual vuelven a ser desactivadas con rapidez. Por lo tanto, la actividad de estas cinasas aumenta y disminuye en forma cíclica. Por ejemplo, algunas de estas proteincinasas se activan al final de la fase G_1 y son responsables de promover el pasaje a la fase S; otra cinasa se activa inmediatamente antes de la fase M y es responsable de impulsar la célula a la mitosis.

La activación y la desactivación de esas cinasas en los momentos apropiados dependen, en parte, de otro grupo de proteínas del sistema de control, las **ciclinas**, que no ejercen actividad enzimática por sí mismas, sino que deben unirse a las cinasas del ciclo celular para que éstas adquieran actividad enzimática. Por lo tanto, las cinasas del sistema de control del ciclo celular se conocen como **proteincinasas dependientes de ciclinas**, o **Cdk** (Fig. 18-4). Las ciclinas se denominan de esta manera porque, a diferencia de las Cdk, sus concentraciones varían en forma cíclica durante el ciclo celular. Los cambios cíclicos de las concentraciones de ciclinas contribuyen a la formación y activación cíclicas de complejos ciclina-Cdk; a su vez, la activación de estos complejos desencadena diversos procesos del ciclo celular, como el ingreso en la fase S o en la fase M (Fig. 18-5). En Biología experimental, pp. 615-616, se analiza cómo se descubrieron las Cdk y las ciclinas.

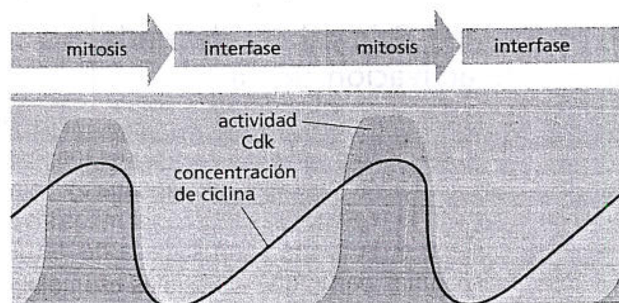
La actividad de las Cdk también es regulada por procesos de fosforilación y desfosforilación

El aumento y la declinación de los niveles de ciclina desempeñan un papel importante en la regulación de la actividad de la Cdk durante el ciclo celular, pero el cuadro es más complejo. Las concentraciones de ciclina aumentan gradualmente durante toda la interfase, pero la actividad de los complejos ciclina-Cdk asociados tiende a aumentar en el momento apropiado del ciclo celular (véase Fig. 18-5). Por lo tanto, ¿qué desencadena la activación rápida de estos complejos? Para que la actividad de una ciclina-Cdk sea máxima, la Cdk debe ser fosforilada en un sitio por una proteincinasa específica y desfosforilada en otros por una proteinfosfatasa específica (Fig. 18-9). Más adelante, se analiza cómo estas cinasas y fosfatasas regulan la actividad de determinados complejos ciclina-Cdk y, de este modo, controlan la progresión a lo largo del ciclo celular.

Distintos complejos ciclina-Cdk desencadenan diferentes pasos del ciclo celular

Hay varios tipos de ciclina, y en la mayoría de las células eucariontes, varios tipos de Cdk implicados en el control del ciclo celular. Distintos complejos ciclina-Cdk desencadenan diferentes pasos del ciclo celular. La ciclina que actúa en G_2 desencadenando el ingreso en la fase M se denomina **ciclina M**, y el complejo activa que

Figura 18-5. La acumulación de ciclinas regula la actividad de las Cdk. La formación de complejos activos ciclina-Cdk impulsa diversos procesos del ciclo celular, incluido el ingreso en la fase S o en la fase M. La figura muestra los cambios de concentración de ciclinas y actividad de Cdk responsables de controlar el ingreso en la fase M. El aumento de la concentración de ciclinas ayuda a formar el complejo ciclina-Cdk activo que impulsa el ingreso en la fase M. Aunque la actividad enzimática del complejo ciclina-Cdk aumenta y disminuye durante el curso del ciclo celular, la concentración del componente Cdk, no (no mostrado).



DESCUBRIMIENTO DE LAS CICLINAS Y LAS CDK

Durante muchos años, los biólogos fueron espectadores del 'teatro de títeres' en el que participaban la síntesis de DNA, la mitosis y la citocinesis, pero no tenían ninguna idea de qué factores controlaban estos procesos detrás del telón. El sistema de control del ciclo celular era meramente una 'caja negra' en el interior de la célula. Ni siquiera se sabía si existía un sistema de control independiente o si la maquinaria responsable del ciclo celular de alguna manera se controlaba a sí misma. La identificación de las proteínas clave del sistema de control y la observación de que eran distintas de los componentes de la maquinaria del ciclo celular, es decir, las enzimas y las proteínas responsables de procesos fundamentales como la replicación del DNA, la segregación de los cromosomas, etc. representó un gran avance.

Los primeros componentes del sistema de control del ciclo celular que se descubrieron fueron las ciclinas y las cinasas dependientes de ciclinas (Cdk) que impulsan las células a la fase M. Se los identificó en estudios de división celular realizados en cigotos de animales.

Retorno al huevo

Los cigotos de numerosos animales son particularmente adecuados para hacer estudios bioquímicos del ciclo celular, por su excepcional tamaño y su división rápida. Por ejemplo, un huevo de la rana *Xenopus* mide algo más de 1 mm de diámetro (**Fig. 18-6**). Después de la fecundación, se divide con rapidez en numerosas células más pequeñas. Estos ciclos celulares rápidos consisten, principalmente, en fases S y M repetidas con fases G_1 y G_2 muy breves o ausentes. No hay una nueva transcripción: todos los mRNA, así como la mayoría de las proteínas requeridas para este estadio temprano de desarrollo embrionario ya están empaquetados en el interior del huevo desde su desarrollo como oocito en el ovario materno. En estos primeros ciclos de división *(divisiones por escisión)* no se produce crecimiento celular y todas las células del embrión se dividen en forma sincrónica.

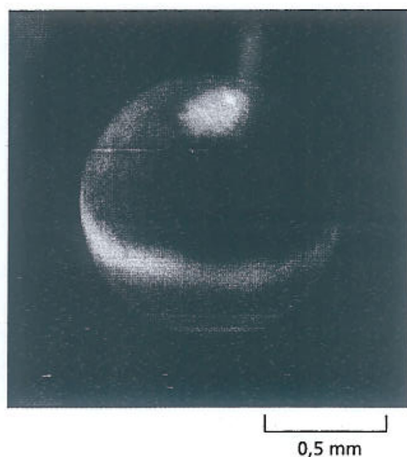


Figura 18-6. Un huevo de *Xenopus* maduro es un sistema conveniente para estudiar la división celular. (Cortesía de Tony Mills).

Dada la sincronía, es posible preparar un extracto de huevos de rana que sea representativo de la etapa del ciclo celular en el que se realiza. Después, se puede investigar la actividad biológica de un extracto de este tipo inyectándolo a un oocito de *Xenopus* (el precursor inmaduro del huevo no fecundado) y observar con el microscopio sus efectos sobre el comportamiento del ciclo celular. El oocito de *Xenopus* es un sistema de prueba particularmente conveniente para detectar una actividad que impulsa a las células a la fase M, debido a su gran tamaño, y porque ha completado la replicación del DNA y está detenido en una etapa del ciclo celular meiótico (véase capítulo 19) equivalente a la fase G_2 del un ciclo celular mitótico.

Denos una M

En estos experimentos, los investigadores observaron que un extracto del huevo en fase M impulsaba instantáneamente al oocito a la fase M, mientras que el citoplasma de un huevo en otras fase del ciclo, no. Cuando se descubrió, se desconocían la identidad bioquímica y el mecanismo de acción del factor responsable de esta actividad, que se denominó simplemente *factor promotor de la maduración*, o MPF (**Fig. 18- 7**). La investigación de citoplasma obtenido en distintas etapas del ciclo celular reveló que la actividad del MPF oscilaba de manera sustancial durante el curso de cada ciclo celular: aumentaba con rapidez justo antes del comienzo de la mitosis y disminuía rápidamente a cero al final de la mitosis (**Fig. 18-8**). Esta oscilación convirtió al MPF en un firme candidato a componente involucrado en el control del ciclo celular.

Cuando finalmente se purificó el MPF, se halló que contenía una proteincinasa requerida para su actividad. Sin embargo, la fracción cinasa del MPF no actuaba sola, sino que debía tener una proteína específica (que no se sabía que era la ciclina M) unida a ella para funcionar. La ciclina M se descubrió en un tipo distinto de experimento en el que se utilizaron huevos de almeja.

Pescando en almejas

Al principio, la ciclina M se identificó como una proteína cuya concentración aumentaba en forma gradual durante la interfase y, luego, declinaba rápidamente a cero a medida que los huevos de almeja atravesaban la fase M (véase Fig. 18-5). Esto se repetía durante cada ciclo celular. Sin embargo, su participación en el control del ciclo celular inicialmente era oscura. El avance se produjo al descubrir que la ciclina era un componente del MPF, y que su presencia era necesaria para su actividad. Así, el MPF, denominado ahora Cdk de M, es un complejo proteico formado por dos subunidades: una reguladora, la ciclina M, y una catalítica, la Cdk mitótica. Una vez identificados los componentes de la Cdk de M, se aislaron otros tipos de ciclinas y Cdk cuyas

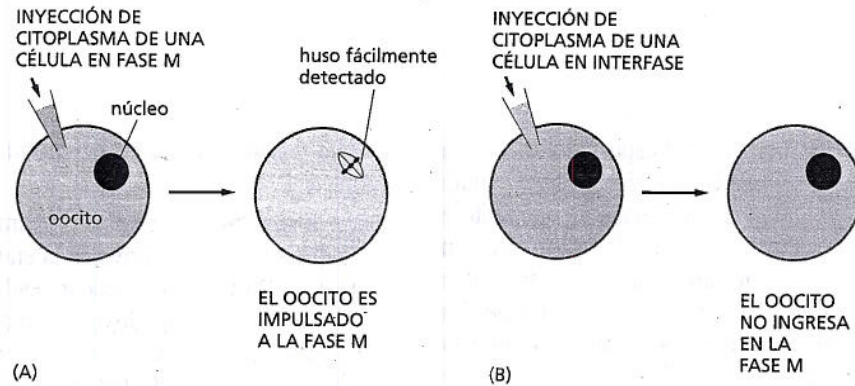


Figura 18-7. La actividad del MPF se descubrió mediante la inyección de citoplasma de huevo de *Xenopus* a oocitos de *Xenopus*. (A) Se inyecta en un oocito de *Xenopus* citoplasma obtenido de un huevo de *Xenopus* en fase M. El extracto celular impulsa al oocito a la fase M de la primera división meiótica, lo que determina que el núcleo de gran tamaño se fragmente y se forme un huso. (B) Cuando se toma citoplasma de un huevo en interfase del ciclo celular, no se induce el ingreso del oocito en la fase M. Por lo tanto, el extracto de (A) debe contener alguna actividad –un factor promotor de la maduración (MPF)– que desencadena el ingreso en la fase M.

concentraciones y actividades aumentan y declinan, respectivamente, en otras etapas del ciclo celular.

Todo queda en familia

Mientras los bioquímicos identificaban las proteínas que regulan el ciclo celular de los embriones de rana y de almeja, los genetistas especializados en levaduras adoptaron un enfoque diferente para investigar el sistema de control del ciclo celular. Mediante el estudio de mutantes que quedaban detenidos o se comportaban anormalmente en determinados puntos del ciclo celular, estos investigadores lograron identificar numerosos genes responsables de su control. Algunos de estos genes resultaron codificar ciclinas o proteínas Cdk que eran inequívocamente similares –tanto en las secuencias de aminoácidos, como en la función– a sus homólogas de ranas y almejas. Poco tiempo después se identificaron genes similares en las células humanas.

Muchos de los genes responsables del control del ciclo celular han cambiado tan poco durante la evolución que la versión humana del gen podría funcionar perfectamente bien en una célula de levadura. Por ejemplo, una levadura con una copia defectuosa del gen que codifica su única Cdk no puede dividirse; sin embargo, si se introduce artificialmente una copia del gen humano apropiado en la célula defectuosa, la levadura mutante se divide con normalidad. Sin duda, esta clara evidencia de parentesco entre los seres humanos y las levaduras hubiese sorprendido aun a Darwin. Pese a mil millones de años de evolución divergente, todas las células eucariontes –ya sean de levaduras, animales o vegetales– utilizan esencialmente las mismas moléculas que controlan los acontecimientos de su ciclo celular.

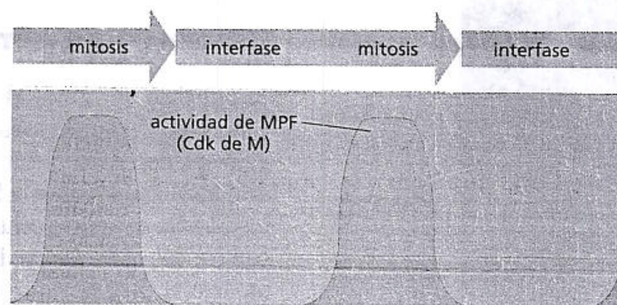


Figura 18-8. La actividad del MPF fluctúa durante el ciclo celular en los embriones de *Xenopus*. La actividad analizada mediante la prueba ilustrada en la figura 18-7 aumenta con rapidez inmediatamente antes del comienzo de la mitosis y declina rápidamente a cero al final de la mitosis.

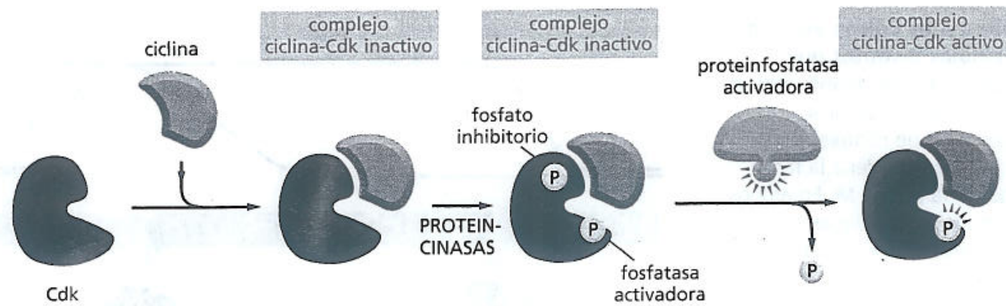


Figura 18-9. Para que una Cdk sea activa, debe estar fosforilada en un sitio y desfosforilada en otros dos. Cuando se forma inicialmente, el complejo ciclina-Cdk no está fosforilado y es inactivo. Después, la Cdk es fosforilada en un sitio, lo que es necesario para su actividad y en otros dos sitios (anulación) que inhiben su actividad. Este complejo fosforilado sigue siendo inactivo hasta que, por último, es activado por una fosfatasa que elimina los dos grupos fosfato inhibitorios. Por razones de simplicidad, aquí sólo se muestra un grupo fosfato inhibitorio.

forma con su Cdk, **Cdk de M**. Distintas ciclinas, llamadas **ciclinas S** y **ciclinas G1/S**, se unen a una proteína Cdk diferente en un estadio tardío de G_1 formando **Cdk de S** y **Cdk de G_1/S**, respectivamente, y desencadenan la fase S. Otras ciclinas, conocidas como **ciclinas G1**, actúan en un momento más temprano de la fase G_1 y se unen a otras proteínas Cdk formando **Cdk de G_1**, que ayudan a impulsar el pasaje de la célula de la fase G_1 a la fase S. Más adelante, se verá que la formación de estas **Cdk de G_1** en las células animales suele depender de moléculas de señalización extracelular que estimulan la división celular. En el cuadro 18-2 se enumeran los nombres de cada ciclina y su Cdk.

Como se comentó antes, las diferentes Cdk también deben ser fosforiladas y desfosforiladas para actuar (véase Fig. 18-9). A su vez, cada uno de estos complejos ciclina-Cdk activados fosforila un grupo distinto de proteínas diana de la célula. En consecuencia, cada tipo de complejo desencadena un paso de transición diferente del ciclo celular. Por ejemplo, Cdk de M fosforila proteínas clave que promueven la condensación de los cromosomas, la ruptura de la envoltura nuclear y la reorganización de los microtúbulos del citoesqueleto lo que forma el huso mitótico. Estos fenómenos predicen el ingreso en la mitosis, como se analiza más adelante.

El sistema de control del ciclo celular también depende de proteólisis cíclica

La concentración de cada tipo de ciclina aumenta de manera gradual, pero después cae bruscamente en un momento específico del ciclo celular (véase Fig. 18-10). Este descenso brusco se debe a la degradación de la proteína ciclina. Complejos enzimáticos específicos añaden cadenas de ubicuitina a la ciclina apropiada, que después es dirigida hacia el proteasoma donde se destruye (Fig. 18-11). Esta rápida eliminación de la ciclina restablece el estado inactivo de la Cdk.

CUADRO 18-2 PRINCIPALES CICLINAS Y CDK DE LOS VERTEBRADOS

COMPLEJO CICLINA-CDK	CICLINA	CDK ASOCIADA
Cdk de G_1	Ciclina D*	Cdk4, Cdk6
Cdk de G_1/S	Ciclina E	Cdk2
Cdk de S	Ciclina A	Cdk2
Cdk de M	Ciclina B	Cdk1**

*Hay tres ciclinas D en los mamíferos (ciclinas D1, D2 y D3).

**La denominación original de Cdk1 fue Cdk2 en los vertebrados.

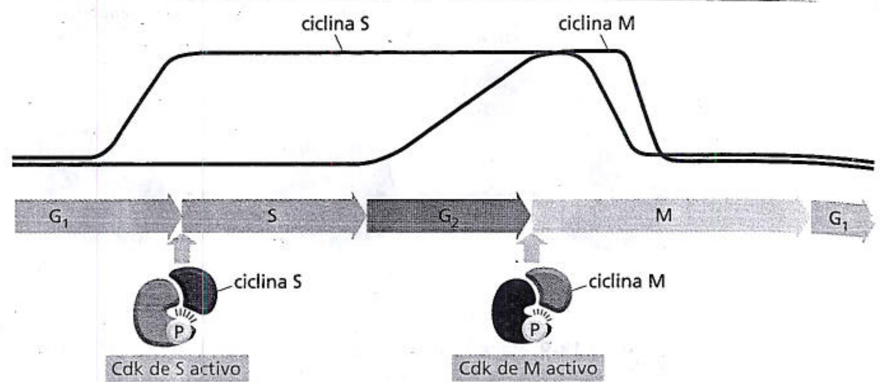


Figura 18-10. Diferentes Cdk se asocian con diferentes ciclinas distintas que desencadenan los distintos acontecimientos del ciclo celular. Para simplificar, solo se ilustran dos tipos de complejos ciclina-Cdk, uno que desencadena la fase S y otro que desencadena la fase M. En ambos casos, la activación de la Cdk requiere fosforilación y desfosforilación, así como la unión a una ciclina.

Si bien la activación de las Cdk desencadena algunas de las transiciones de una etapa del ciclo celular a la siguiente, su desactivación desencadena otras. Por ejemplo, la desactivación de Cdk de M –inducida por la destrucción de la ciclina M– induce los fenómenos moleculares que hacen salir a la célula de la mitosis.

Las proteínas que inhiben las Cdk pueden detener el ciclo celular en puntos de control específicos

Se ha visto que el sistema de control del ciclo celular desencadena los fenómenos del ciclo en un orden determinado. Por ejemplo, sólo inicia la mitosis después de la replicación de todo el DNA, y sólo permite la bipartición celular después de completada la mitosis. Si uno de los pasos se retrasa, el sistema de control demora la activación del paso siguiente de modo que se mantiene la secuencia normal. Esta capacidad autorreguladora garantiza que, por ejemplo, si la síntesis de DNA se demora por algún motivo durante la fase S, la célula no progrese a la fase M con una replicación parcial del DNA. Como se mencionó antes, el sistema de control cumple esta función, en gran medida, mediante la acción de frenos moleculares capaces de detener el ciclo celular en puntos de control específicos, lo que permite que la célula revise su estado interno y su medio antes de progresar a lo largo del ciclo (véase Fig. 18-3).

Algunos de estos frenos moleculares responsables dependen de **proteínas inhibidoras de las Cdk** que bloquean el ensamblaje o la actividad de uno o más complejos ciclina-Cdk. Por ejemplo, ciertas proteínas inhibidoras de las Cdk ayudan a mantener las Cdk en estado inactivo durante la fase G_1 del ciclo, lo que demora la progresión a la fase S. La pausa en este punto de control le da más tiempo a la célula para que crezca o le permite aguardar a que las condiciones extracelulares sean favorables para la división. Como regla general, las células de mamíferos sólo se multiplicarán si son estimuladas a hacerlo por señales extracelulares, denominadas *mitógenos*, producidas por otras células. En ausencia de estas señales, el ciclo celular se detiene en un *punto de control de G_1* (véase Fig. 18-3); y si la deprivación persiste el tiempo suficiente, la célula abandonará el ciclo celular e ingresará en un estado no proliferativo G_0, en el que puede permanecer durante días, semanas o, incluso, durante toda la vida del organismo (Fig. 18-12).



Figura 18-11. La actividad de las Cdk está regulada por la degradación de la ciclina. La ubicuitinación de una ciclina marca a la proteína que será destruida en los proteasomas (véase capítulo 7). La pérdida de ciclina torna inactiva a su Cdk asociada.



Figura 18-12. El punto de control de G1 plantea a la célula una encrucijada. La célula puede dedicarse a completar otro ciclo celular, hacer una pausa transitoria hasta que las condiciones sean las apropiadas o abandonar por completo el ciclo celular e ingresar en G_0. En algunos casos, las células en G_0 pueden reingresar en el ciclo celular cuando mejoran las condiciones, pero muchos tipos celulares abandonan definitivamente el ciclo celular cuando se diferencian y siguen en G_0 durante toda la vida del animal.

La mayor parte de la diversidad en las velocidades de división celular del organismo adulto reside en la variación del tiempo que las células pasan en G_0 o en G_1. Algunos tipos celulares, como las células hepáticas, se suelen dividir sólo una vez por año o cada dos años, mientras que ciertas células epiteliales del intestino se dividen más de dos veces por día lo que renueva continuamente el revestimiento intestinal. Muchas de nuestras células ocupan una posición intermedia: se pueden dividir si surge la necesidad pero, en general lo hacen de manera poco frecuente. El escape del punto de control de G_1 o de G_0 exige la acumulación de ciclinas G_1, y los mitógenos actúan estimulando esta acumulación.

Una vez superado el punto de control de G_1, una célula suele cumplir con rapidez todo el resto del ciclo celular, por lo general en 12-24 horas, en los mamíferos. Por lo tanto, el punto de control de G_1 se denomina a veces *start* (comienzo), porque atravesarlo representa un compromiso para completar un ciclo de división completo, aunque *stop* (parar) podría ser una mejor denominación (véase Fig. 18-12). La figura 18-13 resume algunos de los principales puntos de control del ciclo celular.

La decisión más radical que puede tomar el sistema de control del ciclo celular es que la célula abandone en forma permanente el ciclo celular. Esto es diferente del retiro transitorio del ciclo celular hasta que aparezcan condiciones más favorables, y tiene una importancia especial en los organismos pluricelulares. Por ejemplo, en el cuerpo humano, las células nerviosas y las células de músculo esquelético dejan de dividirse en forma permanente cuando se diferencian. Ingresan en un estado G_0 irreversible, en el que el sistema de control del ciclo celular está, en gran medida, desmantelado: desaparecen muchas de las Cdk y las ciclinas, y los complejos ciclina-Cdk aún presentes son inhibidos por proteínas inhibidoras de las Cdk.

A continuación, se considera la fase S, en la que las células replican su DNA y comienzan a preparar sus cromosomas que se segregarán.

FASE S

Antes de que una célula se divida debe duplicar su DNA. Como se analiza en el capítulo 6, esta replicación debe ser muy exacta para minimizar el riesgo de mutaciones en la siguiente generación de células. Es igual de importante que cada nucleótido del genoma se copie una vez –y sólo una vez– lo cual evita los efectos lesivos de la amplificación génica. En esta sección, se consideran los mecanismos



Figura 18-13. El sistema de control del ciclo celular puede detener el ciclo en distintos puntos de control. Las "T" *rojas* representan puntos del ciclo donde el sistema de control puede aplicar frenos moleculares (p. ej., proteínas inhibidoras de las Cdk) y detener la progresión en respuesta al daño del DNA, procesos intracelulares que no se han completado o un medio extracelular desfavorable. El punto de control indicado en la fase M garantiza que todos los cromosomas estén unidos en forma apropiada al huso mitótico antes de que se separen los cromosomas duplicados.

PREGUNTA 18-3

¿Por qué supone que las células han desarrollado un estado G_0 especial con el cual salen del ciclo celular en lugar de detenerse simplemente en un estado G_1, en un punto de control de G1?

refinados por los que el sistema de control del ciclo celular inicia el proceso de replicación y, al mismo tiempo, impide que la replicación se produzca más de una vez por ciclo celular.

La Cdk de S inicia la replicación del DNA y contribuye a bloquear un nuevo proceso de replicación

Como se comenta en el capítulo 6, la replicación del DNA comienza en los *orígenes de replicación*, secuencias de nucleótidos dispersas a lo largo de cada cromosoma. Estas secuencias reclutan proteínas específicas que controlan el proceso de replicación del DNA. Un complejo multiproteico, denominado **complejo de reconocimiento de origen (ORC)**, permanece unido a los orígenes de replicación durante todo el ciclo celular y actúa como una suerte de pista de aterrizaje para otras proteínas reguladoras que se unen antes del comienzo de la fase S.

Una de estas proteínas reguladoras, denominada Cdc6, está presente en bajos niveles durante la mayor parte del ciclo celular, pero su concentración aumenta transitoriamente en los primeros momentos de G_1. Cuando Cdc6 se une a los ORC en G_1, promueve la unión de otras proteínas y forma un *complejo prerreplicación*. Una vez ensamblado este complejo, el origen de replicación se encuentra listo para 'disparar'. Después, la activación de Cdk de S a fines de G_1 'aprieta el gatillo', lo que inicia la replicación del DNA.

Como muestra la **figura 18-14**, Cdk de S no sólo desencadena la activación del origen de replicación, sino que además ayuda a evitar la re-replicación del DNA. Cdk de S contribuye a la fosforilación de Cdc6, lo que determina que ésta y otras proteínas del complejo prerreplicación se disocien del ORC después de que un origen se ha activado. Este desensamblaje impide que la replicación se produzca de nuevo en el mismo origen. Además de promover la disociación, la fosforilación inducida por Cdk de S (y por Cdk de M, que se activa al comienzo de la fase M) es una marca que permite su degradación, lo que asegura que no se reinicie la replicación del DNA en una fase más avanzada del mismo ciclo celular.

Las cohesinas ayudan a mantener juntas las cromátidas hermanas de cada cromosoma replicado

Después de que los cromosomas se duplicaron en la fase S, las dos copias de cada cromosoma replicado permanecen unidas estrechamente como **cromátidas hermanas**. Éstas se mantienen unidas por complejos proteicos denominados **cohesinas**, que se ensamblan a lo largo de toda la extensión de cada cromática hermana a medida que se replica el DNA en la fase S. Las cohesinas forman anillos proteicos

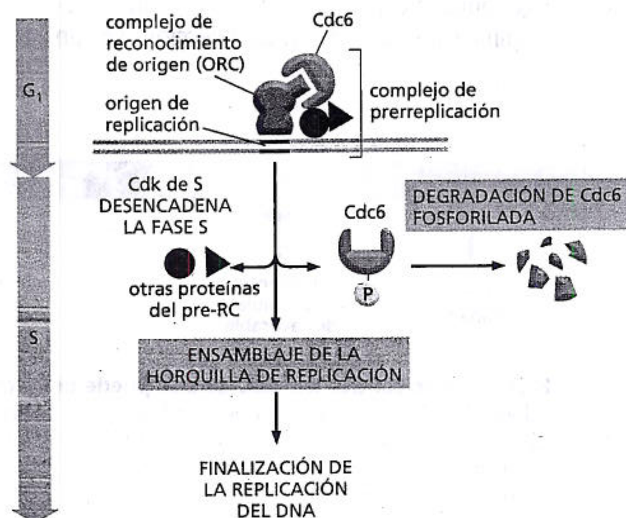


Figura 18-14. La Cdk de S desencadena la replicación del DNA y garantiza que se inicie sólo una vez por ciclo celular. Los ORC permanecen asociados con los orígenes de replicación durante todo el ciclo celular. A principios de G_1, la proteína reguladora Cdc6 se asocia con el ORC. Ayudadas por Cdc6, otras proteínas se unen al DNA adyacente, lo que determina la formación de un complejo de prerreplicación, que incluye las proteínas y el DNA al que están unidas. Después, Cdk de S desencadena la descarga del origen al inducir el ensamblaje de los complejos proteicos que inician la síntesis de DNA (véase capítulo 6). Asimismo, Cdk de S ayuda a bloquear una nueva replicación ayudando a fosforilar a Cdc6, lo que la disocia del origen y se degrada.

que rodean a ambas cromátidas hermanas y las mantienen juntas (Fig. 18-15). Esta cohesión entre cromátidas hermanas es crucial para la correcta segregación de los cromosomas, y se rompe por completo sólo al final de la mitosis permitiendo que las cromátidas hermanas sean separadas por el huso mitótico. Los defectos de cohesión de las cromátidas hermanas –en levaduras mutantes, por ejemplo– inducen errores importantes en la segregación de los cromosomas.

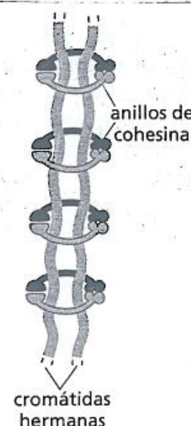


Figura 18-15. Las cohesinas unen dos cromátidas hermanas adyacentes en cada cromosoma replicado. Forman grandes anillos proteicos que rodean a las cromátidas hermanas, lo que impide que se separen hasta que los anillos se rompen en etapas tardías de la mitosis.

Los puntos de control de daño del DNA ayudan a prevenir la replicación de DNA dañado

El sistema de control del ciclo celular tiene varios mecanismos distintos que detienen el progreso del ciclo celular si el DNA está dañado. Los *puntos de control de daño del DNA* de las fases G_1 y S impiden que la célula comience o complete la fase S y replique el DNA dañado. Otro punto de control actúa en G_2 impidiendo que la célula ingrese en la fase M con DNA dañado o incompletamente replicado (véase Fig. 18-13).

El mecanismo del punto de control de G_1 se conoce especialmente bien. El daño del DNA causa un aumento de la concentración y la actividad de una proteína denominada **p53**, que es un regulador que activa la transcripción de un gen que codifica una proteína inhibidora de las Cdk, conocida como p21. La proteína p21 se une a Cdk de G_1/S y a Cdk de S, y les impide impulsar la célula a la fase S (Fig. 18-16). La detención del ciclo celular en G_1 da tiempo a la célula a reparar el DNA dañado antes de replicarlo. Si el daño del DNA es demasiado grave para ser reparado, p53 puede inducir a la célula a la autodestrucción por apoptosis. Si no hay p53 o ésta es defectuosa, la replicación no restringida de DNA dañado induce una alta tasa de mutación y la producción de células que tienden a transformarse en cancerosas. De hecho, se detectan mutaciones del gen *p53* en alrededor de la mitad de los cánceres humanos.

Una vez iniciada la replicación del DNA actúa otro tipo de mecanismo de punto de control que impide que la célula ingrese en la fase M con DNA dañado o incompletamente replicado. Como vimos en la figura 18-9, la fosforilación en determinados sitios inhibe la actividad de los complejos ciclina-Cdk. Para que la célula progrese a la mitosis se debe activar la Cdk de M por eliminación de estos fosfatos inhibitorios por una proteinfosfatasa específica. Cuando el DNA está dañado (o incompletamente replicado), la proteinfosfatasa activadora está, ella misma, inhibida, de manera que no se eliminan los fosfatos inhibitorios de la Cdk de M. En consecuencia, ésta permanece inactiva, y no se puede iniciar la fase M hasta que la replicación del DNA sea completa y se haya reparado cualquier daño del DNA.

Una vez que la célula ha superado estos puntos de control y ha replicado con éxito su DNA en la fase S y avanzado a G_2, está preparada para ingresar en el fase M, en la que divide su núcleo (proceso de mitosis) y, después su citoplasma –proceso de citocinesis– (véase Fig. 18-2). En las tres secciones siguientes, se considera la fase M. Primero, se presenta una breve revisión de la fase M en su conjunto y, después, se analizan en detalle los procesos que tienen lugar durante la mitosis y la citocinesis. Las células animales serán el foco principal.

PREGUNTA 18-4

¿Qué consecuencias podría tener la replicación del DNA dañado antes de su reparación?

FASE M

Aunque la fase M (mitosis más citocinesis) se produce en un período relativamente breve –alrededor de una hora en una célula de mamífero que se divide una vez por día o, incluso, una vez por año– es, por lejos, la fase más notable del ciclo celular. Durante este corto período, la célula reconoce casi todos sus componentes y los distribuye por igual en las dos células hijas. En efecto, las primeras fases del ciclo celular preparan la escena para la mitosis.

El problema central de una célula en fase M es segregar con exactitud sus cromosomas, que fueron replicados en la fase S precedente, de manera que cada célula

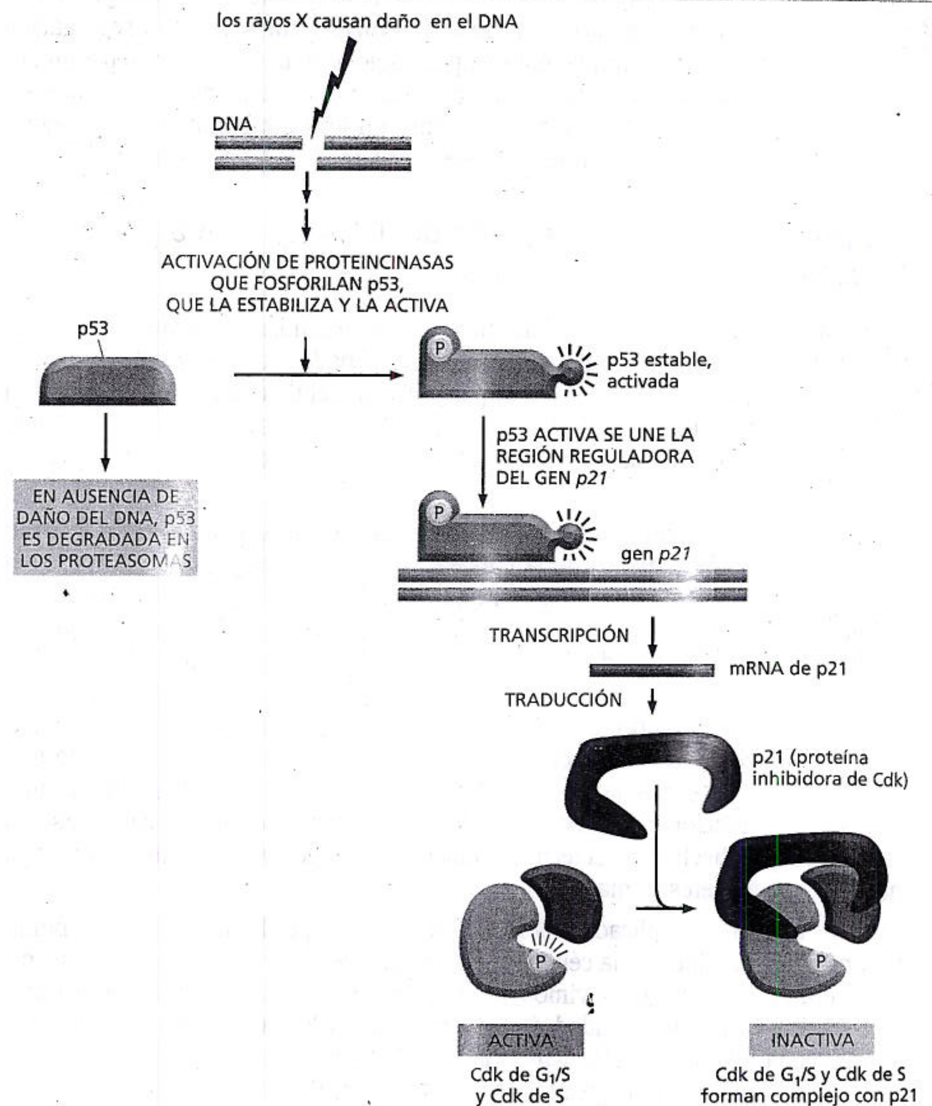


Figura 18-16. El daño del DNA puede detener el ciclo celular en un punto de control de G_1. Cuando el DNA está dañado, proteincinasas específicas responden activando la proteína p53 e interrumpiendo su degradación normal rápida. Entonces, se acumula proteína p53 y se une al DNA (**Película 18.1**). Ahí, estimula la transcripción del gen que codifica la proteína inhibidora de Cdk, p21. La proteína p21 se une a Cdk de G1/S y a Cdk de S, y las desactiva, de manera que el ciclo celular se detiene en G_1.

hija reciba una copia idéntica del genoma. Con variaciones menores, todos los eucariontes resuelven este problema de una manera similar: ensamblan dos maquinarias citoesqueléticas especializadas, una que separa los cromosomas replicados (durante la mitosis), y la otra que divide el citoplasma en dos mitades (citocinesis). El análisis de la fase M comienza con una introducción acerca de cómo se considera que la célula inicia los procesos de esta fase. Después, se analizarán por separado la mitosis y la citocinesis.

La Cdk de M impulsa el ingreso en la fase M y la mitosis

Una de las características más notorias del control del ciclo celular es que un solo complejo proteico, Cdk de M, desencadena todos los distintos y complejos reordenamientos que tienen lugar en las primeras etapas de la mitosis. La Cdk de M desencadena la condensación de los cromosomas replicados en estructuras compactas, similares a bastones, lo que los prepara para la segregación, y también induce el ensamblaje del huso mitótico, que separará a los cromosomas condensados y los segregará en las dos células hijas.

Como se comentó antes, la activación de Cdk de M comienza con la acumulación de ciclina M (véase Fig. 18-10). La síntesis de ciclina M comienza inmediatamente después de la fase S; después, su concentración aumenta de manera gradual y ayuda a fijar el comienzo de la fase M. El aumento de la proteína ciclina M induce una acumulación correspondiente de complejos Cdk de M. Pero esos comple-

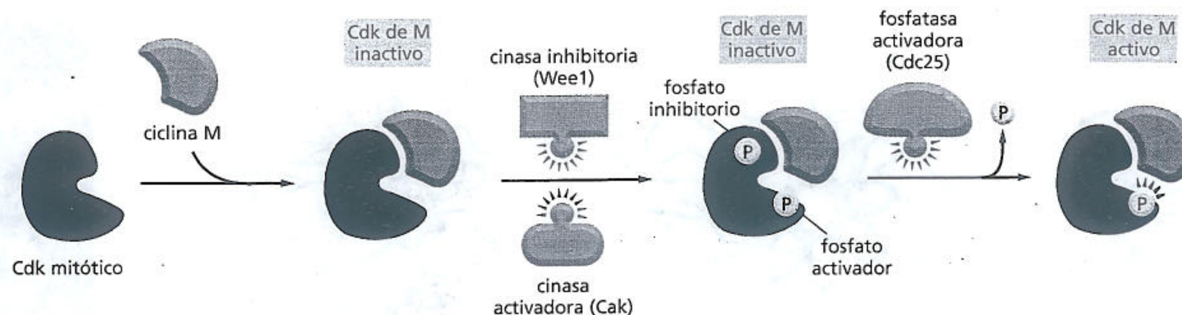


Figura 18-17. Para que una Cdk de M sea activa, debe estar fosforilada en un sitio y desfosforilada en otros. El complejo ciclina-Cdk de M es enzimáticamente inactivo cuando recién se forma. Después, la Cdk es fosforilada en un sitio, lo que es necesario para su actividad, por una enzima denominada cinasa activadora de Cdk, Cak (Película 18.2). También es fosforilada en otros dos sitios de anulación, que inhiben su actividad (por una enzima llamada Wee 1); por simplicidad, sólo se muestra un grupo fosfato inhibitorio. Todavía no se ha esclarecido cómo se controla la cronología de este complejo proceso de activación.

jos, cuando se forman por primera vez, son inactivos. La súbita activación de la reserva de Cdk de M al final de G_2 es desencadenada por la activación de una proteinfosfatasa (Cdc25) que elimina los fosfatos inhibitorios que mantienen frenada a Cdk de M (**Fig. 18-17**).

Una vez activado, cada complejo Cdk puede activar, indirectamente, más Cdk de M al fosforilar y activar más Cdc35, como se ilustra en la **figura 18-18**. Además, la Cdk de M activada también inhibe la cinasa inhibitoria Wee1 (véase Fig. 18-17), lo que promueve aun más la activación de Cdk de M. La consecuencia general es que, una vez iniciada la activación de Cdk de M, hay un aumento explosivo de la actividad de Cdk de M que impulsa la célula bruscamente de la fase G_2 a la fase M.

Las condensinas ayudan a configurar los cromosomas duplicados para la separación

Cuando la célula está por ingresar en la fase M, los cromosomas replicados se condensa y se vuelven visibles como estructuras filiformes. Complejos proteicos denominados **condensinas** ayudan a llevar a cabo esta **condensación cromosómica**. La Cdk de M que inicia el ingreso en la fase M desencadena el ensamblaje de complejos de condensina en el DNA al fosforilar algunas de las subunidades de condensina. La condensación vuelve más compactos los cromosomas mitóticos y los reduce a pequeños paquetes físicos que pueden ser segregados con más facilidad dentro de los límites superpoblados de la célula en división.

Desde el punto de vista estructural, las condensinas están relacionadas con las cohesinas, las proteínas que mantienen unidas a las cromátidas hermanas (véase Fig. 18-15). Tanto las cohesinas como las condensinas forman estructuras anulares y, en conjunto, los dos tipos de anillo proteico ayudan a configurar los cromosomas replicados que se separarán en la mitosis. Las cohesinas se ensamblan en el DNA a medida que éste se replica durante la fase S y mantienen unidas dos moléculas paralelas de DNA: las cromátidas hermanas idénticas. En cambio, las condensinas se ensamblan en cada cromátida individual al comienzo de la fase M y enrollan el DNA ayudando a que se condense cada cromátida (**Fig. 18-19**).

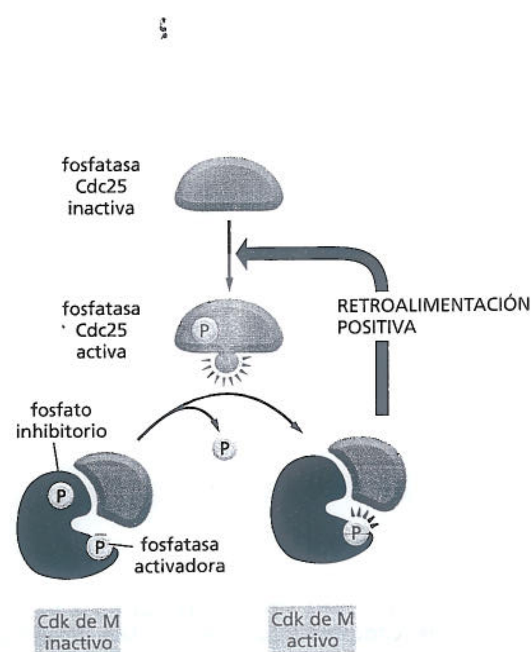


Figura 18-18. La Cdk de M activada activa indirectamente más Cdk de M, lo que crea un circuito de retroalimentación positiva. Una vez activada, la Cdk de M fosforila, y por ende activa, más fosfatasa activadora de Cdk (Cdc25). Ahora, la fosfatasa puede activar más Cdk de M eliminando los grupos fosfato inhibitorios de la subunidad Cdk.

El citoesqueleto conduce la mitosis y la citocinesis

Después de la condensación de los cromosomas replicados, se forman secuencialmente dos maquinarias citoesqueléticas complejas que llevan a cabo los dos procesos mecánicos que se producen en la fase M. El *huso mitótico* conduce la división nuclear (mitosis) y en las células animales y en muchos eucariontes unicelulares, el *anillo contráctil* provoca la división citoplasmática (citocinesis)

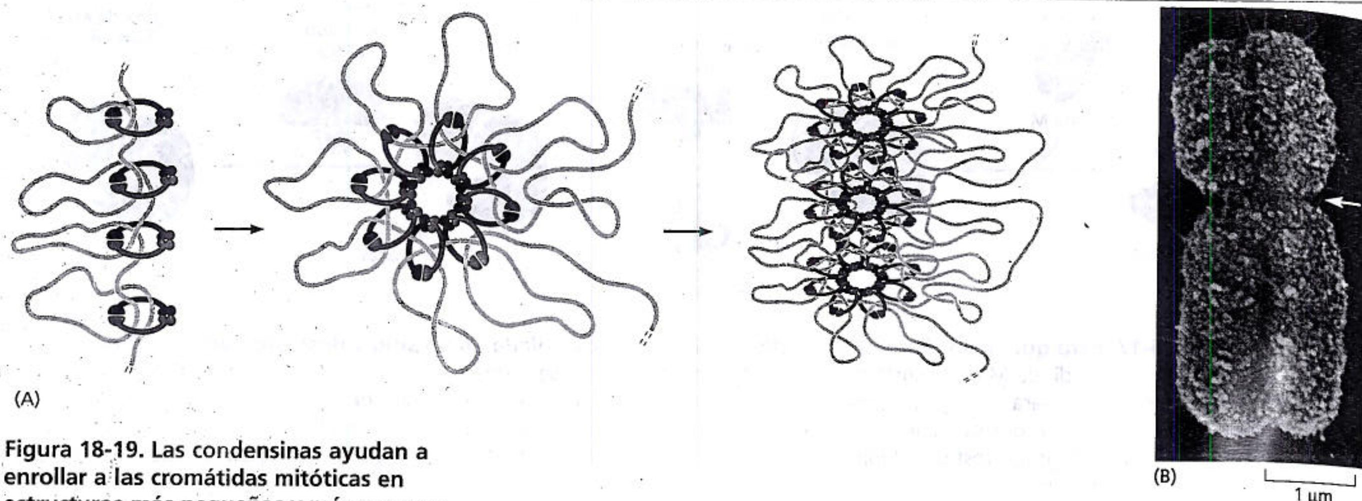


Figura 18-19. Las condensinas ayudan a enrollar a las cromátidas mitóticas en estructuras más pequeñas y más compactas que pueden ser segregadas con mayor facilidad durante la mitosis. (A) Modelo de la manera en que las proteínas condensinas podrían compactar una cromátida aislada enrollando largos bucles de DNA. (B) Microfotografía electrónica de barrido de un cromosoma mitótico humano condensado, que consiste en dos cromátidas hermanas unidas a lo largo de toda su extensión. La región constreñida (*flecha*) es el centrómero, donde cada cromátida se unirá al huso mitótico, que separa a las cromátidas hermanas al final de la mitosis. (B, cortesía de Terry D. Allen).

(Fig. 18-20). Ambas estructuras se desensamblan con rapidez después de haber cumplido sus funciones.

El huso mitótico está compuesto por microtúbulos y las diferentes proteínas que interactúan con ellos, incluidas las proteínas motoras asociadas con los microtúbulos (véase Cap. 17). En todas las células eucariontes, el huso mitótico es responsable de separar los cromosomas replicados y asignar una copia a cada célula hija.

El *anillo contráctil* consiste principalmente en filamentos de actina y miosina distribuidos de manera anular alrededor del ecuador de la célula (véase Cap. 17). Comienza a formarse justo por debajo de la membrana plasmática al final de la mitosis. Cuando el anillo se contrae, arrastra hacia adentro a la membrana, lo que divide en dos a la célula (véase Fig. 18-20). Más adelante, se analiza la manera en que las células vegetales, que tienen que tienen pared celular, dividen su citoplasma mediante un mecanismo muy diferente.

La fase M se divide convencionalmente en seis etapas

Aunque la fase M procede como una secuencia continua de procesos, tradicionalmente se la divide en seis etapas. Las cinco primeras –profase, prometafase, metafase, anafase y telofase– constituyen la **mitosis**, que originalmente se definió como el período en el que los cromosomas son visibles (porque se han condensado). La *citocinesis* es la sexta etapa, que se superpone con el final de la mitosis. La **lámina 18-1** (pp. 626-627) resume las seis etapas de la fase M. En conjunto, forman una secuencia dinámica que coordina muchos ciclos independientes –en los que participan los cromosomas, el citoesqueleto y los centrosomas– produciendo dos células hijas genéticamente idénticas.

Las cinco etapas de la mitosis se producen en un estricto orden secuencial, mientras que la citocinesis comienza en la anafase y continúa en la telofase. Durante

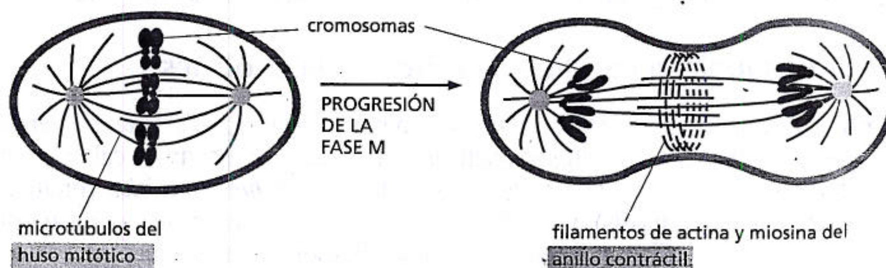


Figura 18-20. Dos estructuras transitorias del citoesqueleto median la fase M en las células animales. El huso mitótico se ensambla primero y separa los cromosomas replicados. Después, se ensambla el anillo contráctil que divide la célula en dos. Mientras que el huso mitótico está compuesto por microtúbulos, el anillo contráctil está formado por filamentos de miosina y actina. Las células vegetales tienen un mecanismo muy diferente que divide el citoplasma, como se explicará después.

la *profase*, los cromosomas replicados se condensan y comienza a formarse el huso mitótico fuera del núcleo. Durante la *prometafase*, se rompe la envoltura nuclear, lo que permite que los microtúbulos del huso se unan a los cromosomas. Durante la *metafase*, el huso mitótico reúne a todos los cromosomas en su centro (ecuador). Durante la *anafase*, las dos cromátidas hermanas de cada cromosoma replicado se separan en forma sincrónica, y el huso las arrastra hacia los polos opuestos de la célula. Durante la *telofase*, se reconstituye la envoltura nuclear alrededor de cada uno de los dos grupos de cromosomas separados formando dos núcleos (Películas 18.3 y 18.4). La citocinesis se completa al final de la telofase, cuando el núcleo y el citoplasma de cada una de las células hijas vuelven a la interfase, lo que indica el final de la fase M.

PREGUNTA 18-5

Se inyecta una cantidad pequeña de citoplasma aislado de una célula en mitosis en un oocito de rana, lo que determina que ingrese en la fase M. (véase Fig. 18-7A). Luego, se obtiene una muestra de citoplasma del oocito inyectado y se la inyecta en un segundo oocito, que también ingresa en la fase M. Este proceso se repite muchas veces hasta que, esencialmente, no quede nada de la muestra proteica original; pese a ello, el citoplasma obtenido del último de la serie de oocitos inyectados todavía es capaz de promover el ingreso en la fase M con la misma eficiencia. Explique esta sorprendente observación.

MITOSIS

Antes de la división nuclear o mitosis, cada cromosoma fue replicado y está formado por dos cromátidas idénticas, que se mantienen unidas a lo largo de toda su extensión mediante proteínas denominadas cohesinas (véase Fig. 18-15). Durante la mitosis, estas proteínas son escindidas, las cromátidas hermanas se separan y los cromosomas hijos resultantes son arrastrados a los polos opuestos de la célula por el huso mitótico (Fig. 18-21). En esta sección, se examina la formación y la función del huso mitótico. Se analiza cómo la inestabilidad dinámica de los microtúbulos y la actividad de las proteínas motoras asociadas contribuyen al ensamblaje del huso y a su capacidad para segregar las cromátidas hermanas. Por último, se considera el mecanismo de punto de control que opera en la mitosis que garantiza la separación sincrónica de las cromátidas hermanas, la segregación correcta de los dos grupos de cromosomas en las dos células hijas, y la salida ordenada y exitosa de la mitosis.

Los centrosomas se duplican y ayudan a formar dos polos del huso mitótico

Antes de que comience la fase M, se deben completar dos acontecimientos críticos: el DNA tiene que replicarse totalmente y, en las células animales, se debe duplicar el centrosoma. El **centrosoma** es el principal *centro organizador de microtúbulos* en las células animales. Su duplicación contribuye a la formación de los dos polos del huso mitótico y a que cada célula hija pueda recibir su propio centrosoma.

La duplicación del centrosoma comienza al inicio de la fase S y se desencadena para las mismas Cdk (Cdk de G1/S y Cdk de S) que inician la replicación del DNA. Al principio, cuando el centrosoma se duplica, ambas copias permanecen juntas como un complejo único a un lado del núcleo. Sin embargo, cuando comienza la mitosis, los dos centrosomas se separan, y cada uno nuclea una estructura radial de microtúbulos denominada **áster**. Los dos ásteres se desplazan a lados opuestos del núcleo formando los dos polos del huso mitótico (Fig. 18-22). El proceso de duplicación y separación del centrosoma se conoce como **ciclo del centrosoma**.

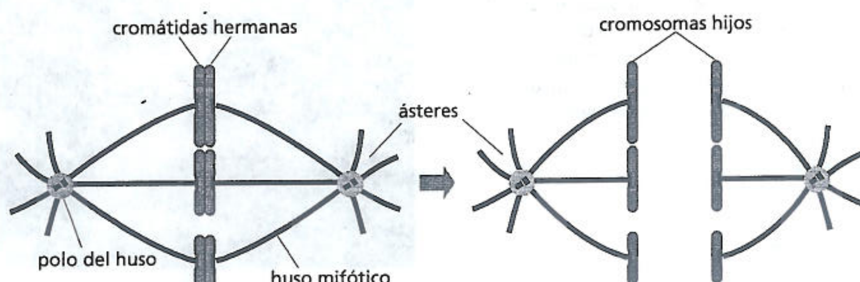
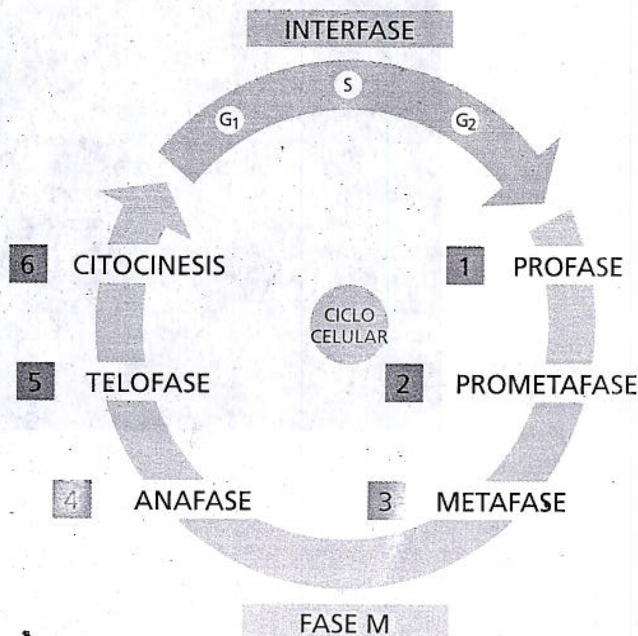


Figura 18-21. Al comienzo de la anafase, se separa cada par de cromátidas hermanas. Después, los cromosomas hijos resultantes son arrastrados a los polos opuestos de la célula por el huso mitótico.

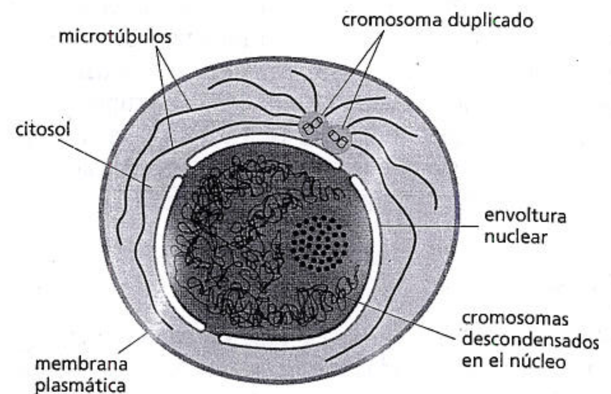
LÁMINA 18-1 Principales etapas de la fase M en una célula animal

DIVISIÓN CELULAR Y CICLO CELULAR



La división de una célula en dos células hijas se produce en la fase M del ciclo celular. La fase M consiste en la división nuclear o mitosis, y la división citoplasmática o citocinesis. En esta figura, la fase M se amplió con fines de claridad. La propia mitosis se divide en cinco etapas que, junto con la citocinesis, se describen en esta lámina.

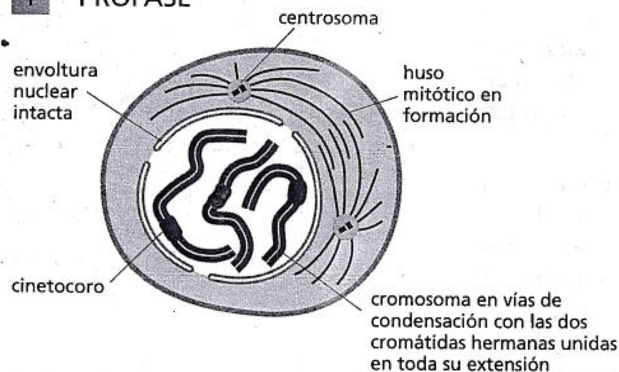
INTERFASE



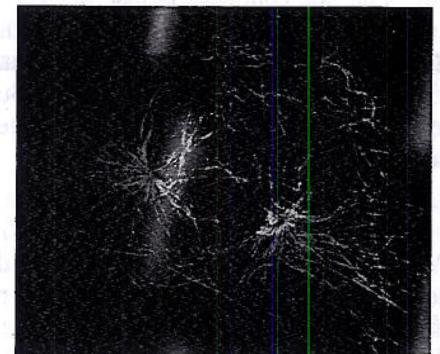
Durante la interfase, la célula aumenta de tamaño. Se replica el DNA de los cromosomas y se duplica el centrosoma.

En las microfotografías ópticas de células animales en división mostradas en esta lámina, los cromosomas están teñidos de *anaranjado* y los microtúbulos, de *verde*. (Microfotografías cortesía de Julie Canman y Ted Salmon; "Metaphase" de la tapa de *J. Cell Sci.* 115(9), 2002, con autorización de The Company of Biologists Ltd; "Telophase" de J.C. Canman et al., *Nature* 424:1074-1078, 2003, con autorización de Macmillan Publishers Ltd).

1 PROFASE

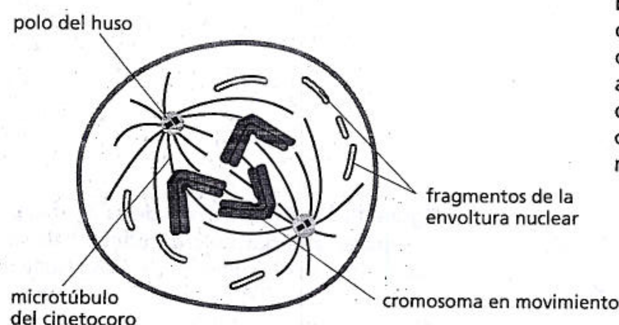


En la profase, los cromosomas replicados, formados cada uno por dos cromátidas hermanas estrechamente asociadas, se condensan. Fuera del núcleo, se ensambla el huso mitótico entre los dos centrosomas, que han comenzado a separarse. Para mayor simplicidad, sólo se dibujaron tres cromosomas.

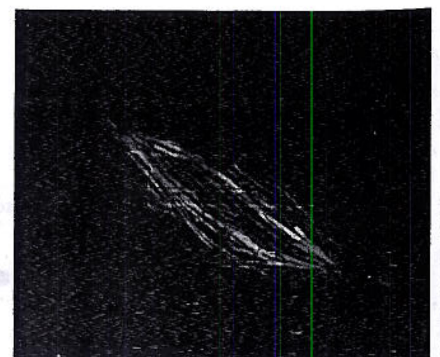


tiempo = 0 minutos

2 PROMETAFASE

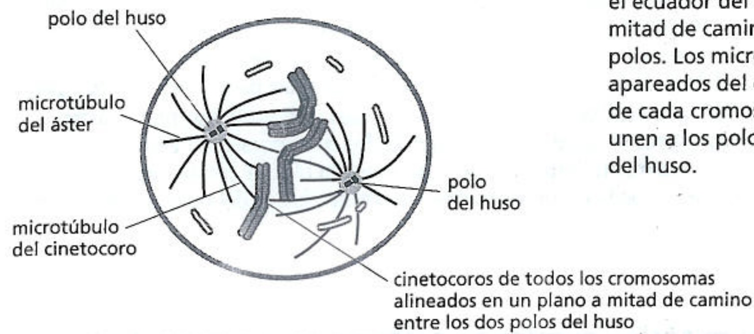


La prometafase comienza bruscamente con la ruptura de la envoltura nuclear. Los cromosomas pueden unirse ahora a los microtúbulos del huso a través de sus cinetocoros y presentar movimiento activo.



tiempo = 79 minutos

3 METAFASE

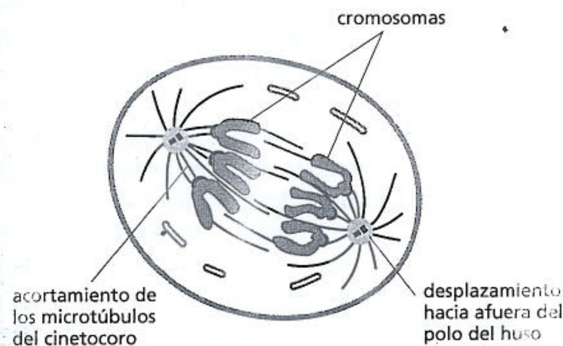


Durante la metafase, los cromosomas se alinean en el ecuador del huso, a mitad de camino entre sus polos. Los microtúbulos apareados del cinetocoro de cada cromosoma se unen a los polos opuestos del huso.

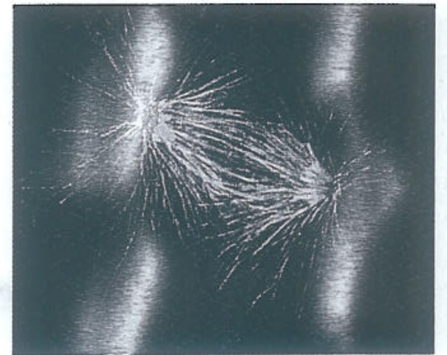


Tiempo = 250 min

4 ANAFASE

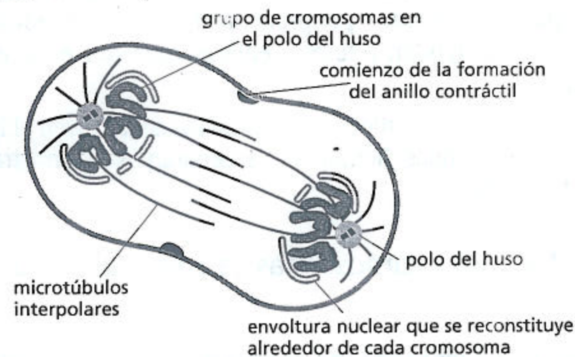


Durante la anafase, las cromátidas hermanas se separan sincrónicamente, y cada una es arrastrada lentamente hacia el polo del huso al que está adherida. Los microtúbulos del cinetocoro se acortan, y los polos del huso también se separan, lo que contribuye a la segregación de los cromosomas.

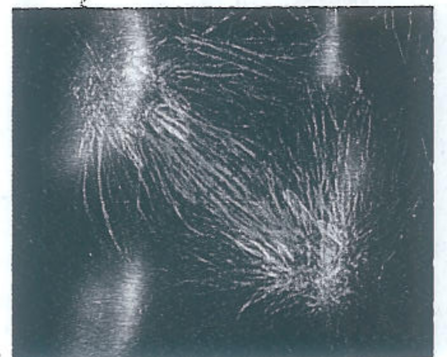


Tiempo = 279 min

5 TELOFASE

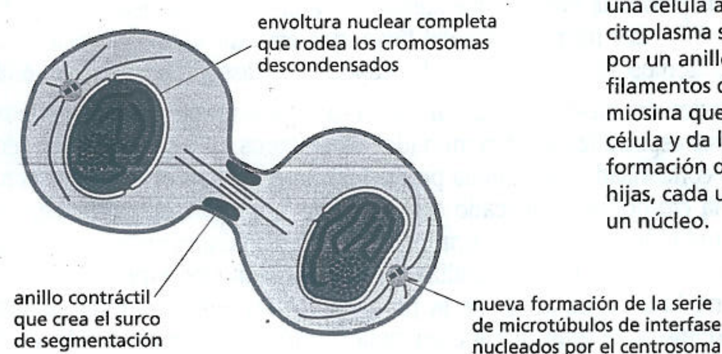


Durante la telofase, los dos grupos de cromosomas llegan a los polos del huso. Se reconstruye una nueva envoltura nuclear alrededor de cada grupo, lo que completa la formación de dos núcleos y marca el final de la mitosis. La división del citoplasma comienza con la formación del anillo contráctil.



Tiempo = 315 min

6 CITOCINESIS



Durante la citocinesis, de una célula animal el citoplasma se divide en dos por un anillo contráctil de filamentos de actina y miosina que estrangula la célula y da lugar a la formación de dos células hijas, cada una de ellas con un núcleo.



Tiempo = 362 min

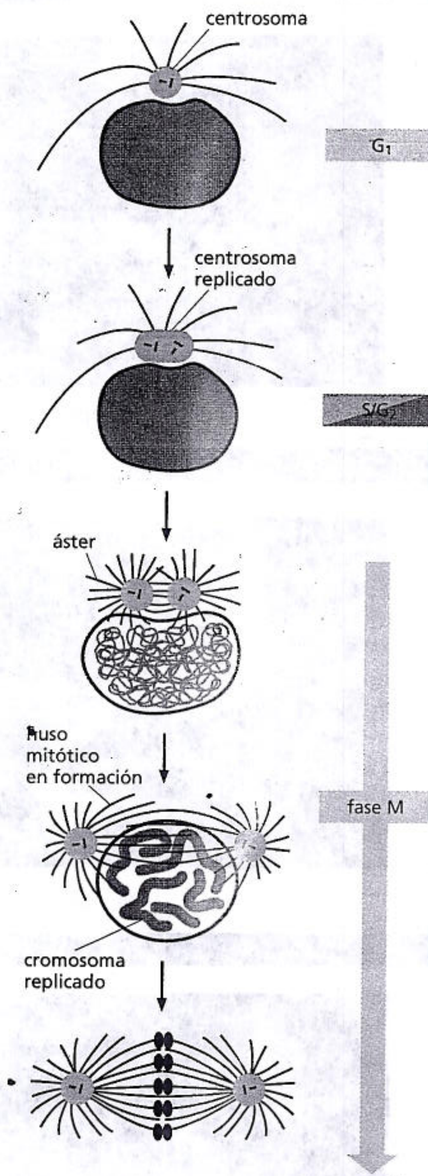


Figura 18-22. El centrosoma de una célula en interfase se duplica y forma los dos polos de un huso mitótico. En la mayoría de las células animales en interfase (G_1, S y G_2), un par de centríolos (mostrados aquí como un par de *barras verde oscuro*) se asocian con la matriz del centrosoma *(verde claro)* que nuclea la evaginación del microtúbulo. (En este diagrama, para mayor claridad se ha exagerado el volumen de la matriz del centrosoma). La duplicación del centrosoma comienza al principio de la fase S y termina al final de G_2. Inicialmente, los dos centrosomas permanecen juntos, pero cuando comienza la fase M, se separan en dos y cada uno nuclea su propio áster. Luego, los dos ásteres se separan y los microtúbulos que interactúan entre ellos se elongan preferencialmente formando un huso mitótico bipolar con un áster en cada polo. Cuando se rompe la envoltura nuclear, los microtúbulos del huso pueden interactuar con los cromosomas.

El huso mitótico comienza a formarse en la profase

El huso mitótico comienza a formarse en la **profase**. Este ensamblaje del huso tan dinámico depende de las notables propiedades de los microtúbulos. Como se analizó en el capítulo 17, los microtúbulos se polimerizan y despolimerizan continuamente mediante el agregado y la pérdida de subunidades de tubulina, y cada filamento alterna entre el crecimiento y la retracción, un proceso denominado *inestabilidad dinámica* (véase Fig. 17-11). Al comienzo de la mitosis, aumenta la inestabilidad dinámica de los microtúbulos, en parte porque la Cdk de M fosforila proteínas asociadas con los microtúbulos que influyen en la estabilidad de los filamentos de los microtúbulos. En consecuencia, durante la profase, se extienden en todas las direcciones microtúbulos de crecimiento rápido y en retracción a partir de los dos centrosomas, que exploran el interior de la célula. Algunos de los microtúbulos que crecen de un centrosoma interactúan con los microtúbulos del otro centrosoma. Esta interacción estabiliza los microtúbulos, impide su despolimerización y une los dos conjuntos de microtúbulos formando el marco básico del **huso mitótico**, con su forma bipolar característica (**Película 18.5**). Los dos centrosomas que dan origen a estos microtúbulos se denominan ahora **polos del huso**, y los microtúbulos que interactúan, *microtúbulos interpolares* (**Fig. 18-23**). El ensamblaje del huso es impulsado, en parte, por proteínas motoras asociadas con los microtúbulos interpolares que ayudan a formar enlaces cruzados entre estos dos grupos de microtúbulos.

En la siguiente etapa de la mitosis, los cromosomas replicados se adhieren al huso de manera que, cuando las cromátidas hermanas se separan, son arrastradas hacia los polos opuestos de la célula.

Durante la prometafase los cromosomas se unen al huso mitótico

La **prometafase** se inicia en forma repentina con la desorganización de la envoltura nuclear, que se rompe en pequeñas vesículas de membrana. Este proceso se desencadena por la fosforilación y el consiguiente desensamblaje de las proteínas del poro nuclear y las proteínas de los filamentos intermedios de la lámina nuclear, la red de proteínas fibrosas que subyace a la envoltura nuclear y la estabiliza (véase Fig. 17-7). Los microtúbulos del huso, que estaban fuera del núcleo, ahora acceden a los cromosomas replicados y los capturan (véase lámina 18-1, p. 626).

Los microtúbulos del huso terminan unidos a los cromosomas por medio de complejos proteicos especializados denominados **cinetocoros**, que se ensamblan en los cromosomas condensados durante la profase tardía (**Fig. 18-24**). Como se comentó antes, cada cromosoma replicado está formado por dos cromátidas hermanas unidas longitudinalmente, y cada una presenta un estrechamiento en una región con una secuencia de DNA especializada, denominada *centrómero* (véase Fig. 18-19B). Inmediatamente antes de la prometafase, las proteínas del cinetocoro forman un complejo de gran tamaño en cada centrómero. Por consiguiente, cada cromosoma duplicado tiene dos cinetocoros (uno en cada cromátida hermana),

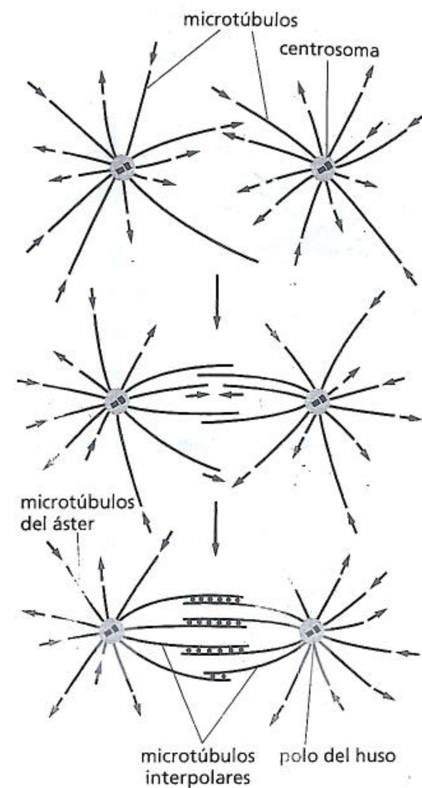


Figura 18-23. El huso mitótico bipolar se forma mediante la estabilización selectiva de los microtúbulos interactuantes. Nuevos microtúbulos crecen en direcciones aleatorias desde los dos centrosomas. Los dos extremos de un microtúbulo (denominados, por convención, extremos más y menos), tienen propiedades diferentes, y es el extremo menos el que está anclado al centrosoma (véase capítulo 17). Los extremos más libres son dinámicamente inestables y alternan en forma brusca de un crecimiento uniforme (flechas *rojas* que apuntan hacia afuera) a un rápido retraimiento (flechas *rojas* que apuntan hacia adentro). Cuando dos microtúbulos de centrosomas opuestos interactúan en una zona de superposición, las proteínas motoras y otras proteínas asociadas con los microtúbulos los unen (puntos *negros*) mediante enlaces cruzados de una manera que estabiliza sus extremos más, lo que reduce su probabilidad de despolimerización.

orientados en direcciones opuestas. La formación del cinetocoro depende de la presencia de la secuencia del DNA del centrómero: en ausencia de esta secuencia, no se forman los cinetocoros y, en consecuencia, fracasa la segregación adecuada de los cromosomas durante la mitosis.

Una vez rota la envoltura nuclear, un microtúbulo explorador que se encuentra por azar con un cromosoma se une a él y lo captura. Finalmente, el microtúbulo se une al cinetocoro, y este *microtúbulo de cinetocoro* une al cromosoma a un polo del huso (véase Fig. 18-24 y lámina 18-1, p. 626). Como los cinetocoros de cromátidas hermanas están orientados en direcciones opuestas, tienden a unirse a los microtúbulos de los polos opuestos del huso, de manera que cada cromosoma replicado queda unido a ambos polos del huso. La unión a polos opuestos llamada **biorientación**, genera tensión en los cinetocoros que son traccionados en direcciones contrarias. Esta tensión indica a los cinetocoros hermanos que están correctamente unidos y preparados para ser separados. El sistema de control del ciclo celular monitoriza esta tensión garantizando la correcta unión de los cromosomas, lo que representa otro punto de control importante del ciclo celular (véanse Figs. 18-3 y 18-13).

La cantidad de microtúbulos unidos a cada cinetocoro varían según la especie: p. ej., cada cinetocoro humano se une a 20-40 microtúbulos, mientras que un cinetocoro de levadura se une sólo a uno. La figura 18-25 muestra las tres clases de microtúbulos que forman el huso mitótico.

Los cromosomas ayudan a ensamblar el huso mitótico

Los cromosomas son más que pasajeros pasivos en el proceso de ensamblaje del huso: pueden estabilizar y organizar los microtúbulos en husos mitóticos funcio-



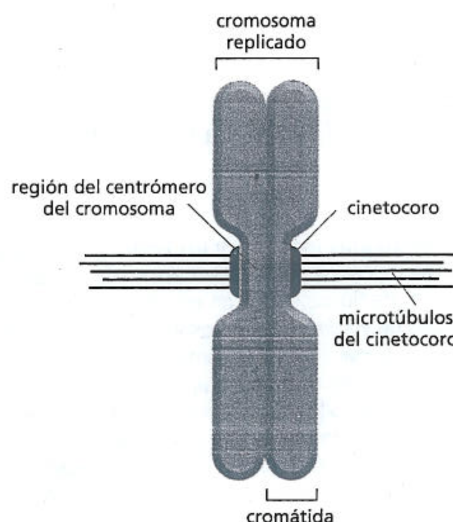
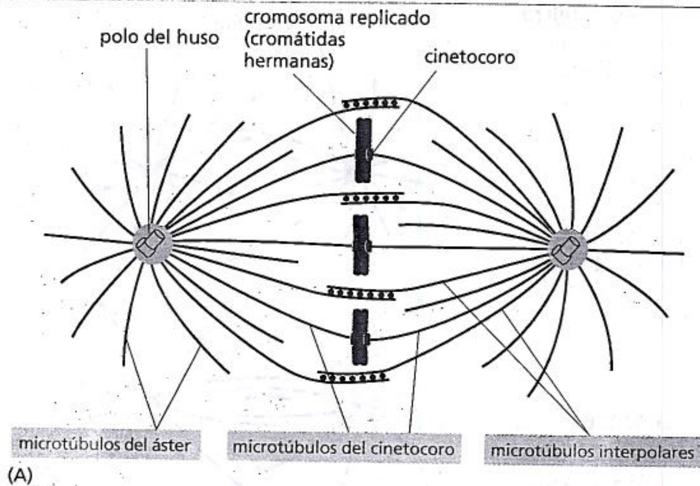


Figura 18-24. Los cinetocoros unen los cromosomas al huso mitótico.
(A) Microfotografía de fluorescencia de un cromosoma mitótico replicado. El DNA está teñido con un colorante fluorescente, y los cinetocoros se tiñen de *rojo* con anticuerpos fluorescentes que reconocen las proteínas del cinetocoro.
Estos anticuerpos provienen de pacientes con esclerodermia (una enfermedad que causa sobreproducción progresiva de tejido conectivo en la piel y otros órganos) quienes, por razones desconocidas, producen anticuerpos contra sus propias proteínas cinetocóricas.
(B) Esquema de un cromosoma mitótico que muestra sus dos cromátidas hermanas unidas a los microtúbulos del cinetocoro, que se unen por sus extremos más. Cada cinetocoro forma una placa sobre la superficie del centrómero. (A, cortesía de B. R. Brinkley).



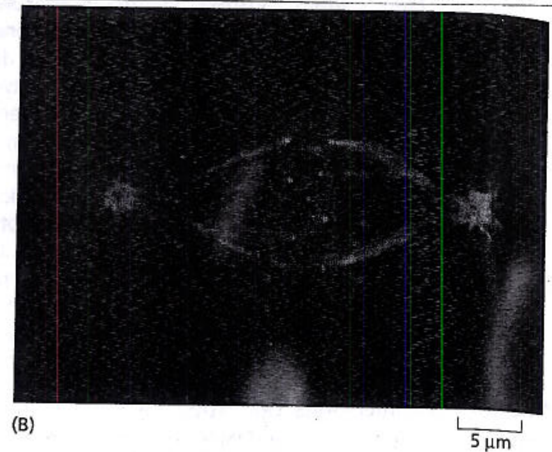


Figura 18-25. Tres clases de microtúbulos constituyen el huso mitótico. (A) Esquema de un huso con los cromosomas unidos que muestra los tres tipos de microtúbulos del huso: microtúbulos del áster, microtúbulos del cinetocoro y microtúbulos interpolares. Los cromosomas reales son mucho más grandes, y en general, hay múltiples microtúbulos unidos a cada cinetocoro. (B) Microfotografía de fluorescencia de los cromosomas en la placa de un huso mitótico real en metafase. En esta imagen, los cinetocoros están marcados en *rojo*; los microtúbulos, en *verde*; y los cromosomas, en *azul*. (B, de A. Desai, *Curr. Biol.* 10:R508,2000. Con autorización de Elsevier).

nales. En las células sin centrosomas (p. ej., todas las células vegetales y algunos tipos de células animales) los propios cromosomas nuclean el ensamblaje de los microtúbulos y los cromosomas en un huso bipolar. Aun en células animales que normalmente tienen centrosomas, se puede formar un huso bipolar por estos medios si se eliminan los centrosomas (Fig. 18-26). En las células con centrosomas, las proteínas motoras y los centrosomas actúan juntos y forman el huso mitótico.

En la metafase, los cromosomas se alinean en el ecuador del huso

Durante la prometafase, los cromosomas, unidos ahora al huso mitótico, comienzan a moverse de un lado al otro, como si se sacudieron primero en una dirección y, después en otra. Finamente se alinean en el ecuador del huso, a mitad de camino entre ambos polos del huso, lo que forma la *placa metafásica* (Fig. 18-27). Aunque no se conocen bien las fuerzas que actúan y llevan los cromosomas hasta el ecuador, se cree que participan tanto del crecimiento y la retracción continuos de los microtúbulos como de la acción de las proteínas motoras de los microtúbulos. También se requiere un equilibrio continuo entre el agregado y la pérdida de subunidades de tubulina para mantener el huso metafásico: cuando el agregado de tubulina a los extremos de los microtúbulos se bloquea con el fármaco colchicina, la pérdida de tubulina continúa hasta que el huso desaparece.

Los cromosomas reunidos en el ecuador del huso metafásico oscilan hacia adelante y hacia atrás, y ajustan continuamente sus posiciones, lo que indica que el tira y afloje entre los microtúbulos unidos a cada polo del huso persiste aún después de que todos los cromosomas se encuentran alineados. Si una de las dos uniones a los cinetocoros se secciona artificialmente con un haz láser durante la metafase, todo el cromosoma se desplaza de inmediato hacia el polo al que permanece unido. De modo similar, si se corta la unión entre las cromátidas hermanas, éstas

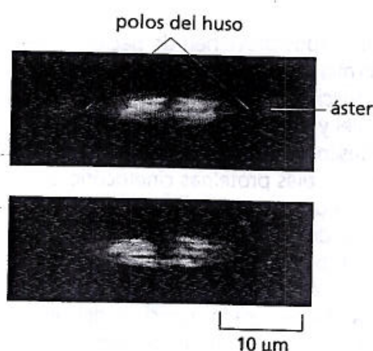
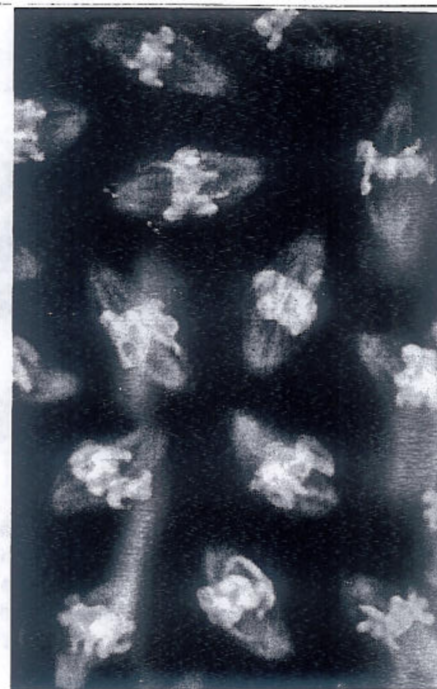


Figura 18-26. Las proteínas motoras y los cromosomas pueden dirigir la formación de un huso bipolar funcional en ausencia de los centrosomas. En estas microfotografías de fluorescencia de embriones del insecto *Sciara*, los microtúbulos están teñidos de *verde* y los cromosomas de *rojo*. La microfotografía superior muestra un huso normal con centrosomas en un embrión normalmente fecundado. La microfotografía inferior muestra un huso formado sin centrosomas en un embrión que inició su desarrollo sin fecundación y que, por esa razón, carece del centrosoma habitualmente proporcionado por el espermatozoide cuando éste fecunda el oocito. Obsérvese que el huso con centrosomas tiene un áster en cada polo, mientras que el huso formado sin centrosomas, no. Ambos tipos de huso pueden segregar los cromosomas hijos. (De B. de Saint Phalle y W. Sullivan, *J. Cell Biol.* 141:1383-1391, 1998. Con autorización de The Rockefeller University Press).



4 µm

Figura 18-27. Durante la metafase, los cromosomas se reúnen a mitad de camino entre los dos polos del huso. Esta microfotografía de fluorescencia muestra múltiples husos mitóticos durante la metafase en un embrión de mosca de la fruta *(Drosophila)*. Los microtúbulos están teñidos de *rojo* y los cromosomas de *verde*. En este estadio de desarrollo de *Drosophila* hay múltiples núcleos en un gran compartimiento citoplasmático, y todos los núcleos se dividen de manera sincrónica, lo que explica por qué todos los núcleos que se muestran aquí están en la misma etapa del ciclo celular: metafase (Película 18.6). Aunque los husos metafásicos se suelen representar en dos dimensiones, como en esta figura, cuando se los observa en tres dimensiones, se advierte que los cromosomas están reunidos en una región con forma de placa en el ecuador del huso: la denominada placa metafásica. (Cortesía de William Sullivan).

se separan y se desplazan hacia los polos opuestos. Estos experimentos revelan que los cromosomas replicados que se encuentran en la placa metafásica se mantienen allí sometidos a tensión. Es evidente que las fuerzas que, finalmente, separan a las cromátidas hermanas comienzan a actuar tan pronto como los microtúbulos se unen a los cinetocoros.

La proteólisis desencadena la separación de cromátidas hermanas y la finalización de la mitosis

La **anafase** comienza de manera brusca con la liberación de la unión de cohesinas que mantienen juntas a las cromátidas hermanas (véase Fig. 18-15). Esto permite que cada cromátida sea arrastrada hacia el polo del huso al que está unida (Fig. 18-28). Este movimiento separa los dos grupos idénticos de cromosomas hacia los extremos opuestos del huso (véase Lámina 18-1, p. 627).

La unión de cohesinas es destruida por una proteasa, denominada *separasa*, que hasta el comienzo de la anafase se mantiene en estado inactivo por unión a una proteína inhibitoria, denominada *securina*. Al comienzo de la anafase, la securina es marcada para la destrucción por un complejo proteico conocido como **complejo promotor de la anafase (APC)**. Una vez eliminada la securina, la separasa puede romper las uniones de cohesina (Fig. 18-29).

El APC no sólo desencadena la degradación de las cohesinas, sino que también marca la ciclina M que de esta manera se destruye, lo que desactiva el complejo Cdk de M. Esta rápida desactivación de Cdk de M ayuda a iniciar la salida de la mitosis.

Los cromosomas hijos se segregan en la anafase

Una vez que las cromátidas hermanas se separan, son arrastradas al polo del huso al que están unidas. Todas se mueven a la misma velocidad, que suele ser de alrededor de 1 µm por minuto. El desplazamiento es consecuencia de dos procesos independientes mediados por partes diferentes del huso mitótico. Estos procesos se denominan *anafase A* y *anafase B*, y se producen en forma más o menos simultánea. En la anafase A, los microtúbulos del cinetocoro se acortan por despolimerización, y los cromosomas unidos a ellos se desplazan en dirección al polo. En la anafase B, los propios polos del huso se separan uno del otro, lo que contribuye todavía más a la segregación de los dos grupos de cromosomas (Fig. 18-30).

Se considera que la fuerza que impulsa los desplazamientos en la anafase A es aportada principalmente por las proteínas motoras asociadas con los microtúbulos que actúan en el cinetocoro, ayudadas por el acortamiento de los microtúbulos del cinetocoro. La pérdida de subunidades de tubulina de los microtúbulos del cinetocoro depende de una proteína de tipo motora unida tanto al microtúbulo como al cinetocoro, que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP para eliminar subunidades de tubulina del microtúbulo.

En la anafase B, los polos del huso y los dos grupos de cromosomas se separan aun más. Se cree que las fuerzas impulsoras de este movimiento dependen de dos

PREGUNTA 18-6

Si se utilizan agujas de vidrio delgadas para manipular un cromosoma dentro de una célula viva al comienzo de la fase M, es posible engañar a los cinetocoros de las dos cromátidas hermanas y que se unan al mismo polo del huso. Esta disposición suele ser inestable, pero se pueden estabilizar las uniones si se usa la aguja para traccionar los cromosomas con suavidad , de manera que los microtúbulos unidos a ambos cinetocoros (y al mismo polo del huso) queden bajo tensión. ¿Qué le sugiere esto sobre el mecanismo por el cual los cinetocoros se unen y permanecen unidos a los microtúbulos de los polos opuestos del huso? ¿Este hallazgo es compatible con la posibilidad de que un cinetocoro esté programado para unirse a los microtúbulos de un determinado polo del huso? Fundamente sus respuestas.

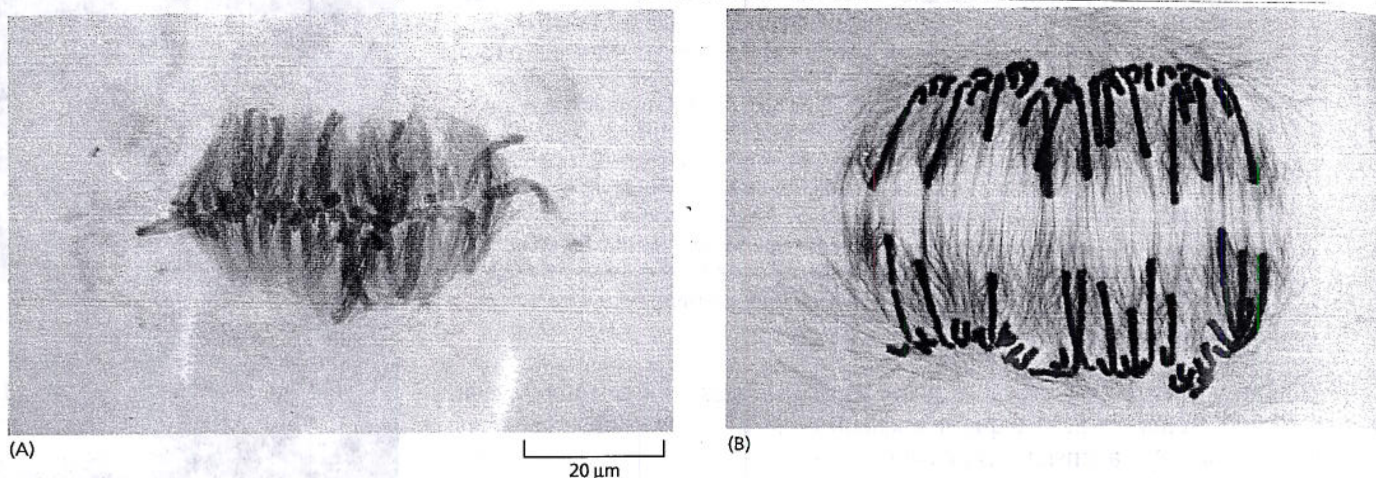


Figura 18-28. Las cromátidas hermanas se separan en la anafase. En la transición de la metafase (A) a la anafase (B), las cromátidas hermanas (teñidas de *azul*) se separan súbitamente y se desplazan hacia los polos opuestos, como se observa en estas células vegetales teñidas con anticuerpos conjugados con oro para marcar los microtúbulos (*rojo*). Por lo general, las células vegetales carecen de centrosomas y por lo tanto, los polos del huso no están definidos de manera tan nítida como en las células animales (véase Fig. 18-35D); no obstante, aquí están presentes los polos del huso en las partes superior e inferior de cada microfotografía, aunque no pueden verse. (Cortesía de Andrew Bajer).

grupos de proteínas –miembros de las familias de la cinesina y de la dineína (véase Fig. 17-20)– que actúan en diferentes tipos de microtúbulos del huso. Un grupo actúa sobre los microtúbulos interpolares largos, superpuestos, que forman el huso propiamente dicho; estas proteínas motoras determinan que los microtúbulos interpolares de los polos opuestos se deslicen unos sobre otros en el ecuador del huso, lo que separa los polos. El otro grupo de proteínas actúa sobre los microtúbulos del áster, que se extienden desde los polos del huso y apuntan lejos del ecuador del huso hacia la periferia de la célula. Se piensa que estas proteínas motoras están asociadas con la corteza celular, que se localiza por debajo de la membrana plasmática, y que traccionan a cada polo hacia la corteza adyacente y lo separan del otro polo (véase Fig. 18-30).

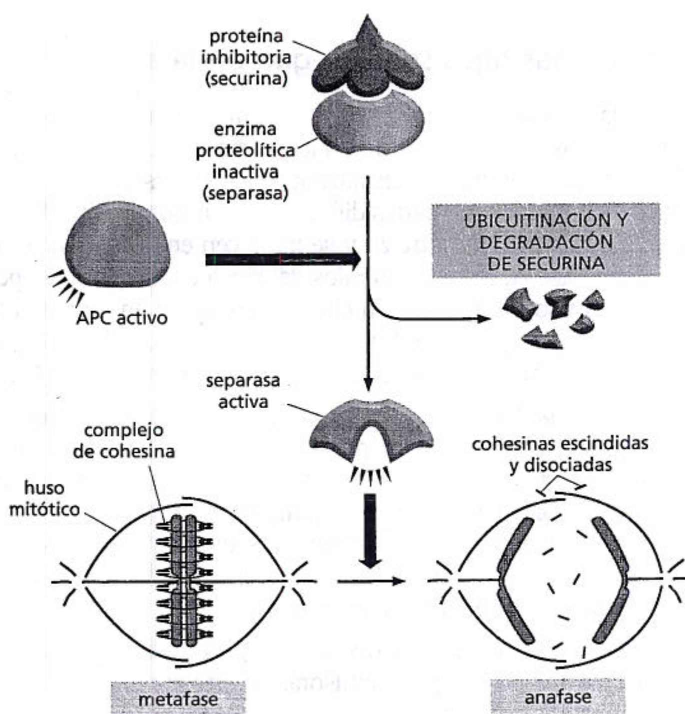
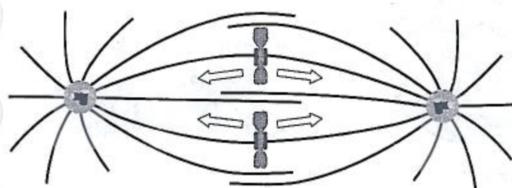
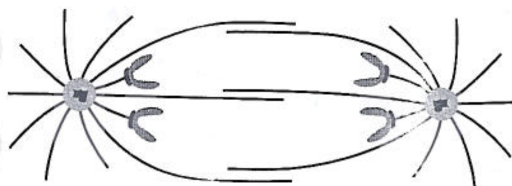


Figura 18-29. El complejo APC desencadena la separación de las cromátidas hermanas al promover la destrucción de las cohesinas. El APC activado desencadena indirectamente la escisión de las cohesinas que mantienen unidas a las cromátidas hermanas. Cataliza la ubicuitinación y la destrucción de una proteína inhibitoria, denominada securina. Ésta inhibe la actividad de una enzima proteolítica, conocida como separasa; cuando se libera de la securina, la separasa degrada los complejos de cohesina, lo que permite que el huso mitótico separe a las cromátidas hermanas.

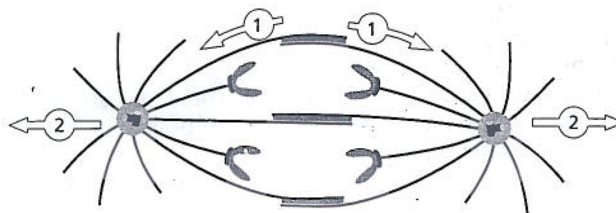
ANAFASE A LOS CROMOSOMAS SON ARRASTRADOS HACIA LOS POLOS



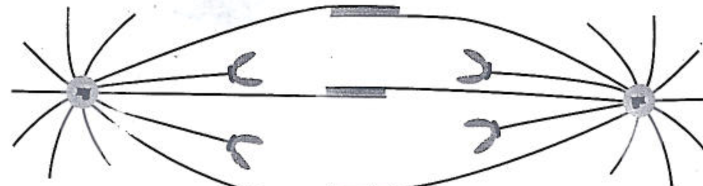
acortamiento de los microtúbulos del cinetocoro: se generan fuerzas en los cinetocoros que desplazan los cromosomas hacia su polo del huso



ANAFASE B LOS POLOS SON EMPUJADOS Y SEPARADOS



se genera una fuerza deslizante (1) entre los microtúbulos interpolares de polos opuestos que separa los polos; una fuerza de tracción (2) actúa sobre los polos y los separa



crecimiento de los microtúbulos en el extremo más de los microtúbulos interpolares

Figura 18-30. Dos procesos separan a las cromátidas hermanas en la anafase. En la *anafase A*, los cromosomas hijos son *arrastrados* hacia los polos opuestos del huso a medida que los microtúbulos cinetocóricos se despolimerizan en el cinetocoro. La fuerza que impulsa este movimiento se genera, sobre todo, en el cinetocoro. En la *anafase B*, los dos polos del huso se separan como resultado de dos fuerzas diferentes: (1) la elongación y el deslizamiento de los microtúbulos interpolares entre sí *empujan* a los polos a que se separen, y (2) las fuerzas ejercidas por los microtúbulos del áster que apuntan hacia afuera en cada polo del huso *separan* a ambos polos entre sí hacia la corteza celular. Se considera que todas estas fuerzas dependen de la acción de proteínas motoras asociadas con los microtúbulos.

Los cromosomas no unidos al huso bloquean la separación de cromátidas hermanas

Si una célula en división comenzara a segregar sus cromosomas antes de que todos estuvieran debidamente unidos al huso, una célula hija recibiría una dotación incompleta de cromosomas, mientras que la otra recibiría un excedente. Ambas situaciones serían letales para la célula. Así, una célula en división debe asegurarse de que todos los cromosomas estén unidos en forma correcta al huso antes de completar la mitosis. El control de la unión de los cromosomas se realiza por una señal negativa: los cromosomas no unidos envían una señal de 'detención' al sistema de control del ciclo celular. Aunque aún no se ha dilucidado el carácter exacto de la señal, se sabe que inhibe el progreso adicional de la mitosis por bloqueo de la activación del APC. Sin APC activo, las cromátidas hermanas continúan adheridas. Por lo tanto, no es posible separar ninguno de los cromosomas duplicados hasta que todos se hayan ubicado correctamente en el huso mitótico. Este así llamado *punto de control de ensamblaje del huso* controla la salida de la mitosis (véanse Figs. 18-3 y 18-13).

La envoltura nuclear se reconstruye en la telofase

Al final de la anafase, los cromosomas hijos se separaron en dos grupos iguales, uno en cada polo del huso. Durante la **telofase**, la etapa final de la mitosis, se desensambla el huso mitótico y se reensambla una envoltura nuclear alrededor de cada grupo de cromosomas formando los dos núcleos hijos. Primero, se agrupan vesículas de la membrana nuclear alrededor de cada cromosoma y, después, se fusionan reconstruyendo la envoltura nuclear (véase Lámina 18-1, pp. 627). Durante este proceso, se desfosforilan las proteínas del poro nuclear y las láminas nucleares que fueron fosforiladas durante la prometafase, lo que permite que se vuelvan a ensamblar y formen la envoltura nuclear y la lámina nuclear, respectivamente (Fig. 18-31). Una vez reconstruida la envoltura nuclear, los poros bombean proteínas al interior del núcleo, que se expande, y los cromosomas mitóticos condensados se descondensan hasta recuperar su estado de interfase. Como consecuencia de la descondensación, se puede reanudar la transcripción génica. Se ha formado un nuevo núcleo, y se ha completado la mitosis. Lo único que falta es que la célula complete su división en dos células hijas separadas.

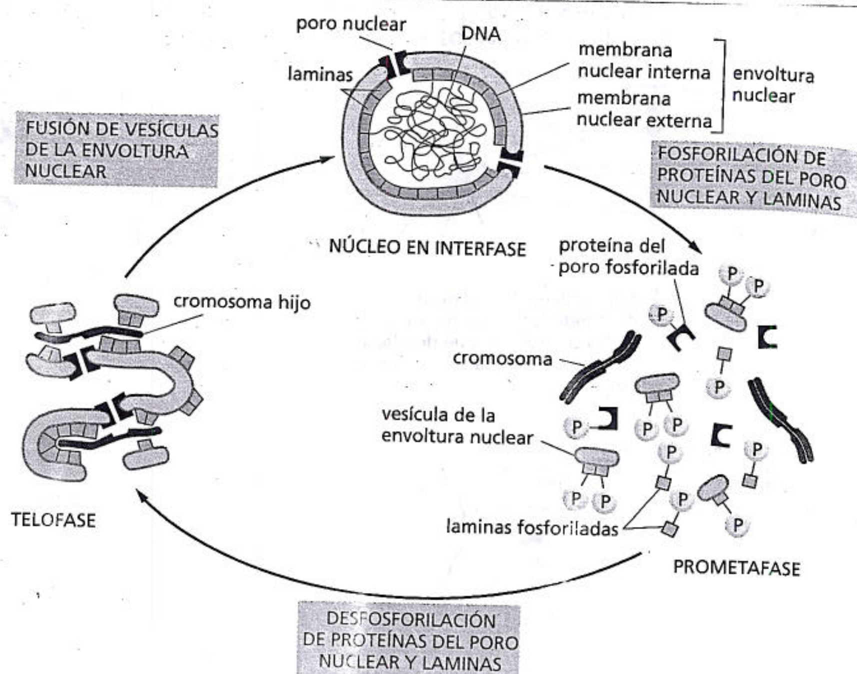


Figura 18-31. La envoltura nuclear se rompe y se reconstituye durante la mitosis. La fosforilación de las proteínas del poro nuclear y de las laminas contribuye a desencadenar el desensamblaje de la envoltura nuclear en la prometafase. La desfosforilación de las proteínas del poro nuclear y de las laminas en la telofase ayuda a revertir el proceso.

CITOCINESIS

La **citocinesis**, el proceso por el cual el citoplasma se escinde en dos, completa la fase M. Por lo general, comienza en la anafase pero no finaliza hasta que se han formado los dos núcleos hijos en la telofase. Mientras que la mitosis depende de una estructura transitoria basada en microtúbulos, el huso mitótico, la citocinesis en las células animales depende de una estructura transitoria basada en filamentos de actina y de miosina, el *anillo contráctil* (véase Fig. 18-20). Sin embargo, tanto el plano de segmentación como la cronología de la citocinesis están determinados por el huso mitótico.

PREGUNTA 18-7

Considere los procesos que conducen a la formación de un nuevo núcleo en la telofase. ¿Cómo se reordenan adecuadamente las proteínas nucleares y citosólicas para que el nuevo núcleo contenga proteínas nucleares pero no proteínas citosólicas?

El huso mitótico determina el plano de segmentación citoplasmático

El primer signo visible de citocinesis en las células animales es la aparición de un pliegue y un surco en la membrana plasmática, que se observa durante la anafase (**Fig. 18-32**). El surco siempre se forma en un plano perpendicular al eje mayor del huso mitótico. Esta posición asegura que el surco de segmentación corte la célula entre los dos grupos de cromosomas segregados, de modo que cada célula hija reciba una dotación idéntica y completa de cromosomas. Si se desplaza deliberadamente el huso mitótico (con una delgada aguja de vidrio) en cuanto aparece el surco de segmentación, éste desaparece, y se forma uno nuevo en el sitio correspondiente a la nueva localización y orientación del huso. Sin embargo, una vez que el proceso de segmentación está en marcha, éste continúa aunque el huso mitótico se extraiga en forma artificial de la célula por aspiración o se lo despolimerice mediante el fármaco colchicina. Todavía no se sabe con certeza cómo el huso mitótico determina la posición del surco de segmentación pero parece que, durante la anafase, tanto los microtúbulos del áster como los microtúbulos interpolares (y sus proteínas asociadas) envían señales a la corteza celular que inician el ensamblaje del anillo contráctil en una posición intermedia entre los polos del huso. Como estas señales se originan en el huso de la anafase, este mecanismo también contribuye a la cronología de la citocinesis al final de la meiosis.

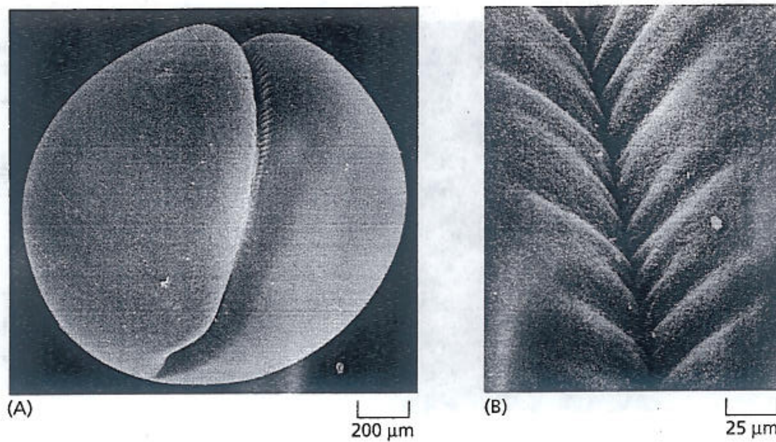


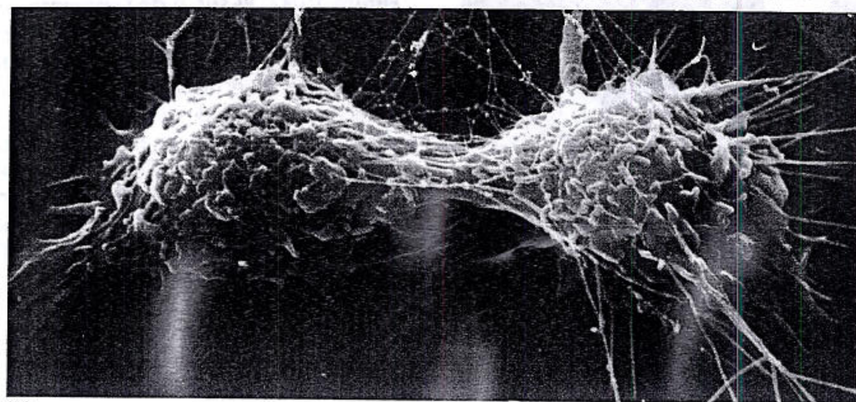
Figura 18-32. El surco de segmentación se forma por la acción del anillo contráctil localizado por debajo de la membrana plasmática. En estas microfotografías electrónicas de barrido de un huevo de rana en división, el surco de segmentación se encuentra inusualmente bien definido. (A) Imagen con poco aumento de la superficie del oocito. (B) Imagen con mayor aumento del surco de segmentación. (De H. W. Beams y R. G. Kessel, *Am. Sci.* 36:279-290, 1976. Con autorización de Sigma Xi).

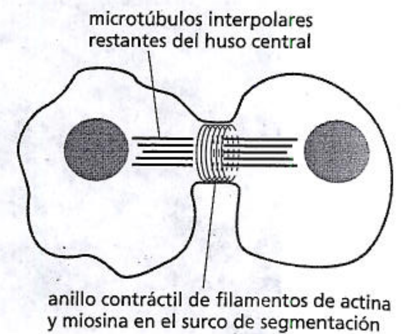
Cuando el huso mitótico se localiza en la región central de la célula –la situación habitual en la mayoría de las células que se dividen– las dos células hijas producidas serán del mismo tamaño. Sin embargo, durante el desarrollo embrionario, hay casos en los que el huso mitótico ocupa una posición asimétrica y, en consecuencia, el surco crea dos células de diferente tamaño. En la mayoría de los casos, las células hijas resultantes también difieren en las moléculas que heredan y, en general, evolucionan a tipos celulares diferentes. En esas *divisiones asimétricas*, se requieren mecanismos especiales que ubican excéntricamente al huso mitótico.

El anillo contráctil de las células animales está compuesto por actina y miosina

El anillo contráctil está compuesto, principalmente, por una serie de filamentos de actina y de miosina superpuestos (Fig. 18-33). Se forma durante la anafase y está unido a proteínas asociadas con la membrana en la cara citoplasmática de la membrana plasmática. Una vez formado, el anillo contráctil puede ejercer una fuerza lo bastante intensa como para doblar una aguja de vidrio fina introducida en la célula antes de la citocinesis. Esta fuerza se genera por el deslizamiento de los filamentos de actina contra los filamentos de miosina (véase Fig. 17-39), como ocurre durante la contracción muscular. Sin embargo, a diferencia del aparato contráctil del músculo, el anillo contráctil es una estructura transitoria: se forma cuando se lleva a cabo la citocinesis, disminuye paulatinamente de tamaño a medida que ésta progresa y se desensambla por completo una vez que la célula se divide en dos.

La división de muchas células animales se acompaña de grandes modificaciones de la forma de la célula y de una disminución de su adherencia a sus vecinas, a la matriz extracelular o a ambas. Estas modificaciones se deben, en parte, a la reorganización de los filamentos de actina y de miosina en la corteza celular, uno de cuyos aspectos es la formación del anillo contráctil. Por ejemplo, los fibroblastos de mamíferos en cultivo se extienden durante la interfase, como resultado de los intensos contactos adhesivos que establecen con la superficie sobre la que están creciendo, denominada sustrato. En cambio, cuando las células ingresan en la fase M, se redondean. Las células cambian de forma, en parte, porque algunas de las proteínas de la membrana plasmática responsables de la adherencia de las células al sustrato –las integrinas (véase capítulo 20)– se fosforilan y, en consecuencia, su adherencia se debilita. Una vez completada la citocinesis, las células hijas restablecen sus firmes contactos con el sustrato y vuelven a aplanarse (Fig. 18-34). Cuando las células se dividen en un tejido animal, este ciclo de adherencia y separación presumiblemente les permite reorganizar sus contactos con las células vecinas y con la matriz extracelular, de manera que las nuevas células producidas durante la división celular puedan ser alojadas dentro del tejido.





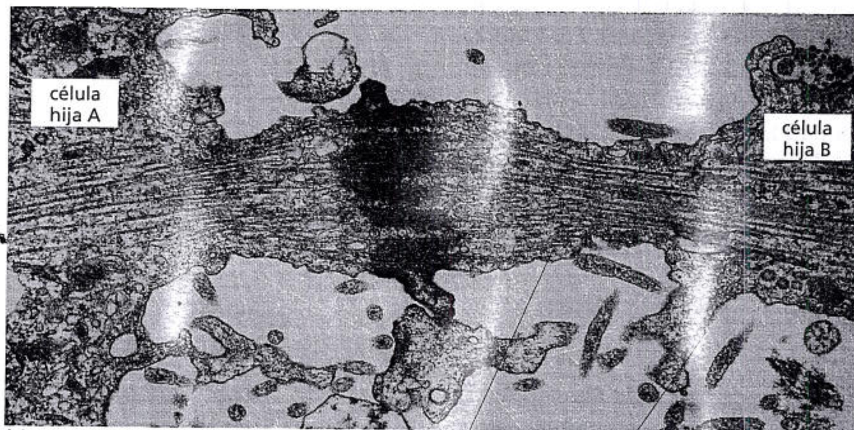


Figura 18-33. El anillo contráctil divide la célula en dos. (A) Microfotografía electrónica de barrido de una célula animal en cultivo en las últimas etapas de la citocinesis. (B) Esquema de la región media de una célula similar que muestra el anillo contráctil por debajo de la membrana plasmática y los restos de ambos grupos de microtúbulos interpolares. (C) Microfotografía electrónica convencional de una célula animal en división. La escisión es casi completa, pero las células hijas permanecen unidas por una delgada banda de citoplasma que contiene los restos de los microtúbulos interpolares superpuestos del huso mitótico central. (A, cortesía de Guenter Albrecht-Buehler; C, cortesía de J. M. Mullins).

En las células vegetales, la citocinesis implica la formación de una pared celular nueva

El mecanismo de citocinesis en los vegetales superiores es completamente diferente del observado en las células animales, quizá porque las células vegetales están rodeadas por una pared celular resistente (véase capítulo 20). Las dos células hijas no se separan por la acción de un anillo contráctil situado en la superficie de la célula, sino por la formación de una pared nueva dentro de la célula en división. La posición de esta nueva pared determina con precisión la localización de las dos células hijas respecto de las células vecinas. Así, los planos de división celular, junto con el agrandamiento de las células, determinan la forma final de la planta.

La pared celular nueva comienza a ensamblarse en el citoplasma entre los dos grupos de cromosomas segregados al comienzo de la telofase. El proceso de ensamblaje es guiado por una estructura denominada **fragmoplasto**, que está formada por los restos de los microtúbulos interpolares en el ecuador del antiguo huso mitótico. Pequeñas vesículas rodeadas de membrana, derivadas en su mayor parte del complejo de Golgi y llenas de polisacáridos y glucoproteínas requeridos para la matriz de la pared celular, son transportadas a lo largo de los microtúbulos hasta el fragmoplasto. Una vez allí, se fusionan formando una estructura similar a un disco, delimitada por una membrana, que se expande hacia afuera con nuevas fusiones de vesículas hasta que alcanza la membrana plasmática y la pared celular original, y divide a la célula en dos (Fig. 18-35). Luego, se depositan dentro de la matriz microfibrillas de celulosa que completan la construcción de la nueva pared celular.

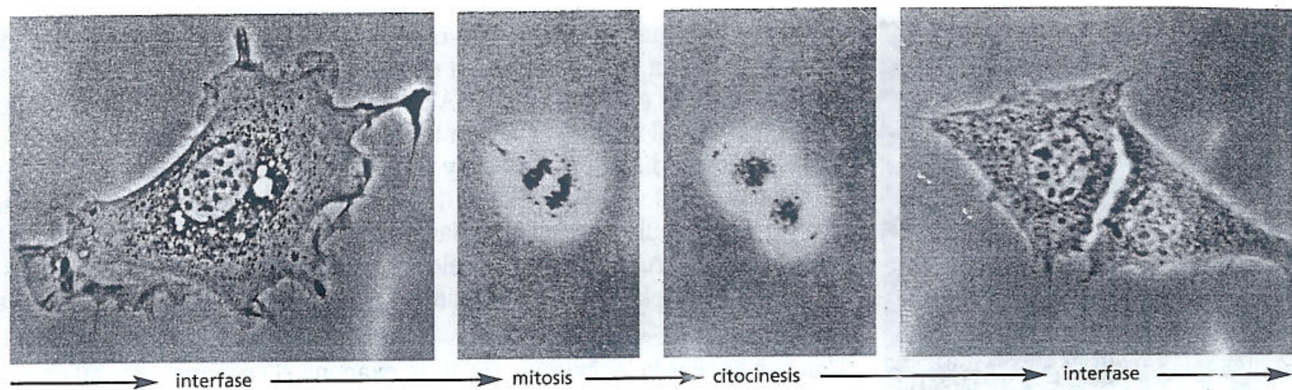
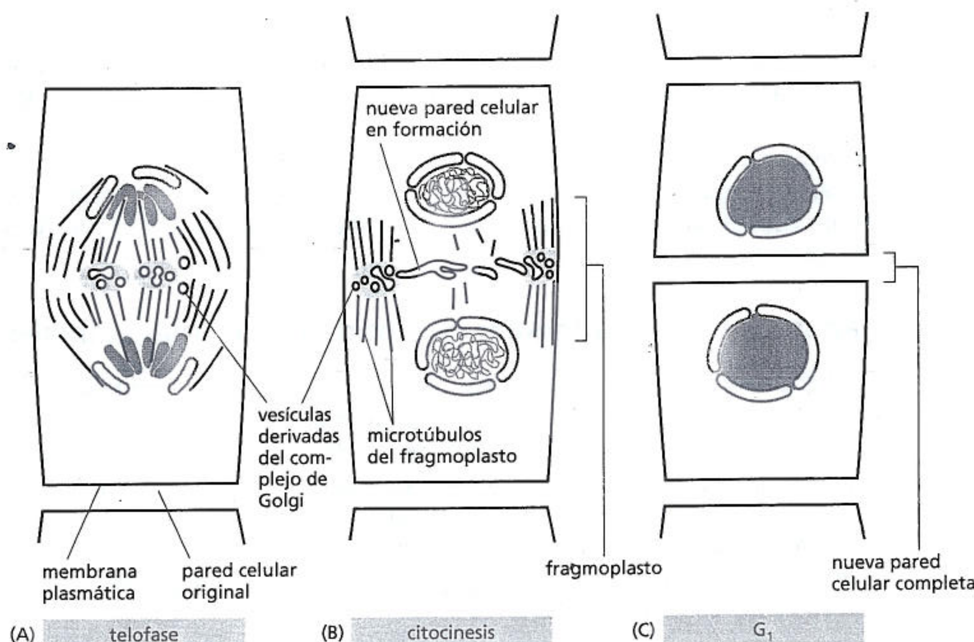


Figura 18-34. **Las células animales cambian de forma durante la fase M.** En estas microfotografías de un fibroblasto de ratón dividiéndose en cultivo, se fotografió la misma célula a intervalos sucesivos. Obsérvese cómo se redondea cuando ingresa en mitosis; después, las dos células hijas se aplanan de nuevo una vez que se complete la citocinesis. (Cortesía de Guenter Albrecht- Buehler).

Los orgánulos rodeados de membrana se deben distribuir en las células hijas cuando una célula se divide

Los orgánulos, como las mitocondrias y los cloroplastos, no se pueden ensamblar espontáneamente a partir de sus componentes individuales; sólo se originan a partir del crecimiento y la división de los orgánulos preexistentes. De modo similar, las células no pueden producir un nuevo retículo endoplasmático (RE) ni un nuevo complejo de Golgi a menos que alguna parte de ellos esté presente, que después puede crecer. Entonces, ¿cómo se segregan estos diversos orgánulos rodeados de membrana cuando la célula se divide, de manera que cada célula hija reciba algunos?

Por lo general, los orgánulos como las mitocondrias y los cloroplastos están presentes en gran cantidad y se heredarán de manera segura sólo con que, en pro-



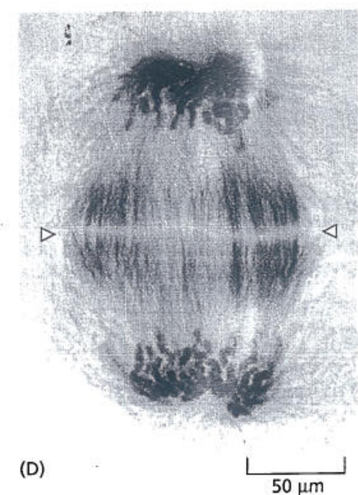


Figura 18-35. **La citocinesis de una célula vegetal es guiada por una estructura especializada basada en microtúbulos que se denomina fragmoplasto.** Al comienzo de la telofase, después de la segregación de los cromosomas hijos, comienza a formarse una nueva pared dentro de la célula, en el ecuador del antiguo huso mitótico (A). Los microtúbulos interpolares del huso mitótico que permanecen en la telofase forman el *fragmoplasto* y guían las vesículas hacia el ecuador del huso. Allí, las vesículas rodeadas de membrana, derivadas del complejo de Golgi y llenas de material de la pared celular, se fusionan y forman la nueva pared celular en crecimiento (B), que se extiende hacia afuera y alcanza la membrana plasmática y la pared celular original. La membrana plasmática y la membrana que rodea a la nueva pared celular (ambas ilustradas en *rojo*) se fusionan, lo que separa por completo a las dos células hijas (C). En (D), se muestra una microfotografía óptica de una célula vegetal en telofase, en un estadio que corresponde a (A). La célula ha sido teñida para mostrar tanto los microtúbulos como los dos juegos de cromosomas hijos segregados en los dos polos del huso mitótico. Las puntas de flecha señalan la localización de la nueva pared celular en crecimiento. (D, cortesía de Andrew Bajer).

medio, se duplique su número con cada ciclo celular. En las células en interfase, el RE se continúa con la membrana nuclear y es organizado por los microtúbulos del citoesqueleto (véase Fig. 17-18A). Al ingresar en la fase M, la reorganización de los microtúbulos libera el RE; en la mayoría de las células, el RE liberado permanece intacto durante la mitosis y es seccionado en dos durante la citocinesis. El complejo de Golgi se fragmenta durante la mitosis; los fragmentos se asocian con los microtúbulos del huso mediante proteínas motoras, lo que los lleva hacia las células hijas cuando el huso se elonga en la anafase. Otros componentes de la célula, por ejemplo todas las proteínas solubles, se heredan en forma aleatoria cuando la célula se divide.

Una vez analizada la división celular, se examina el problema general de cómo se determina el tamaño de un animal o de un órgano, lo que lleva a considerar cómo se controla el número y el tamaño de las células.

PREGUNTA 18-8
Dibuje un esquema detallado de la formación de la pared celular nueva que separa las dos células hijas cuando se divide una célula vegetal (véase Fig. 18-35). En particular, señale dónde terminan las proteínas de membrana de las vesículas derivadas del complejo de Golgi e indique qué le sucede a la parte de la proteína situada en la membrana de una vesícula de Golgi que mira hacia el interior de la vesícula. (Si necesita recordar la estructura de la membrana, remítase al capítulo 11).

CONTROL DE LA CANTIDAD Y EL TAMAÑO CELULARES

Un oocito de ratón y un oocito humano fecundados tienen un tamaño similar, pese a que el ratón adulto es mucho más pequeño que el hombre adulto. ¿Cuáles son las diferencias del control del comportamiento celular en el hombre y en el ratón que determinan estas diferencias de tamaño? Se puede formular esta misma pregunta fundamental sobre cada órgano y tejido de un organismo individual. ¿Qué adaptación del comportamiento celular explica la longitud de la trompa del elefante o el tamaño de su cerebro o hígado? La mayoría de estos interrogantes carecen de respuesta, pero por lo menos podemos sugerir cuáles deben ser los componentes de las respuestas. El tamaño de los órganos y el cuerpo está determinado por tres procesos esenciales: crecimiento, división y muerte celulares. A su vez, cada uno de estos procesos depende de programas intrínsecos de cada célula y es regulado por señales provenientes de otras células del organismo.

En esta sección, consideraremos primero cómo eliminan los organismo las células no deseadas mediante una forma de muerte celular programada, denominada *apoptosis*. Después, analizaremos cómo estimulan las señales extracelulares la supervivencia, el crecimiento y la división de las células, lo que ayuda a controlar el tamaño de un animal y de sus órganos. Al final de la sección, hay un breve análisis de las señales extracelulares inhibitorias que ayudan a mantener frenados estos procesos.

La apoptosis ayuda a regular la cantidad de células animales

Las células de un organismo pluricelular son miembros de una comunidad muy organizada. La cantidad de células de esta comunidad está estrictamente regulada, no sólo por el control de la velocidad de división sino también de la muerte celular. Las células que ya no son necesarias pueden suicidarse mediante la activación de un programa de muerte intracelular, un proceso denominado **muerte celular programada**. En los animales, la forma por lejos más común de muerte celular programada se conoce como **apoptosis** (del vocablo griego que significa 'caer', como las hojas de un árbol).

El grado de apoptosis que se produce en tejidos animales tanto en desarrollo como adultos puede ser sorprendente. Por ejemplo, en el sistema nervioso en desarrollo de los vertebrados, más de la mitad de las células producidas normalmente mueren poco tiempo después de su formación. En un ser humano adulto sano, miles de millones de células mueren por hora en la médula ósea y el intestino. Se podría pensar que la muerte de tantas células representa un verdadero desperdicio, sobre todo porque la gran mayoría de ellas son totalmente normales en el momento en que se destruyen. ¿Cuál es la finalidad de este suicidio celular masivo?

PREGUNTA 18-9
Se considera que el complejo de Golgi se divide entre las células hijas en el momento de la división celular por una distribución aleatoria de fragmentos que se crean en la mitosis. Explique por qué la partición aleatoria de los cromosomas no daría resultado.

En algunos casos, las respuestas son claras. Las patas del ratón –y las manos y los pies del ser humano– son modelados por apoptosis durante el desarrollo

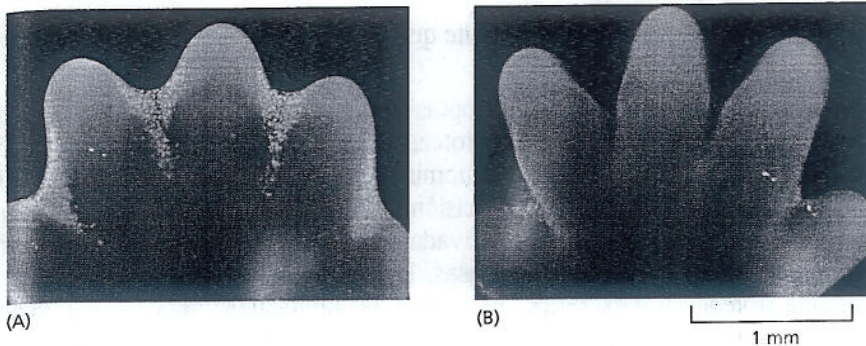


Figura 18-36. La apoptosis en la pata de ratón en desarrollo moldea los dedos. (A) Se ha teñido la pata de este embrión de ratón con un colorante que marca específicamente las células que han presentado apoptosis. Las células apoptóticas se visualizan como *puntos de color verde brillante* entre los dedos en desarrollo. (B) Este proceso de muerte celular elimina el tejido interdigital como se observa en la segunda imagen de la pata obtenida un día después. En ella, la cantidad de células apoptóticas observada es mínima o nula. (De W. Wood y col., *Development* 127:5245-5252, 2000. Con autorización de The Company of Biologists Ltd).

embrionario: comienzan como estructuras en forma de pala, y los dedos de las manos y los pies se separan a medida que mueren las células situadas entre ellos (Fig. 18-36). En otros casos, las células mueren cuando la estructura que han formado deja de ser necesaria. Cuando un renacuajo se transforma en rana por metamorfosis, las células de la cola mueren, y la cola, que ya no es necesaria en la rana, desaparece (Fig. 18-37). En estos casos, las células innecesarias mueren por apoptosis.

En los tejidos adultos, la muerte celular suele equilibrar exactamente la división celular, a menos que el tejido esté creciendo o contrayéndose. Por ejemplo, si se reseca una parte de hígado de una rata adulta, las células hepáticas proliferan compensando la pérdida. Por el contrario, si la rata recibe fenobarbital, que estimula la división celular hepática, el hígado aumenta de tamaño. Sin embargo, cuando se suspende el tratamiento con fenobarbital, la apoptosis hepática aumenta en forma notable hasta que el órgano recupera su tamaño original, en general, en el término de una semana. Así, el hígado mantiene su tamaño constante mediante la regulación de las tasas de muerte y de nacimiento celulares.

La apoptosis es mediada por una cascada proteolítica intracelular

Las células que mueren como consecuencia de una lesión aguda suelen presentar tumefacción y estallido, con derrame de su contenido sobre las células vecinas; este proceso se conoce con el nombre de *necrosis celular* (Fig. 18-38A). Esto desencadena una respuesta inflamatoria potencialmente lesiva. Por el contrario, una célula que presenta un proceso de apoptosis muere de manera limpia, sin dañar las células adyacentes. Una célula en vía de apoptosis se retrae y se condensa (Fig. 18-38b), el citoesqueleto se colapsa, la envoltura nuclear se desensambla, y el DNA nuclear se fragmenta (Película 18.7). Más importante aun, la superficie celular se altera de manera que atrae de inmediato células fagocíticas, en general fagocitos especializados denominados macrófagos (véase Fig. 15-32B). Estas células engloban la célula apoptótica antes de que ésta derrame su contenido (Fig. 18-38C). La eliminación rápida de la célula moribunda evita las consecuencias

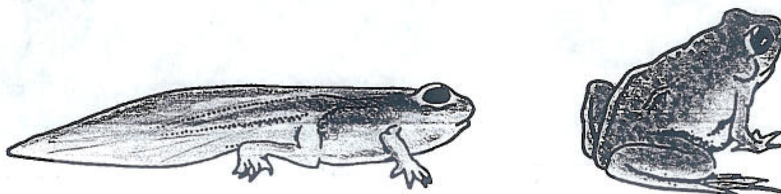


Figura 18-37. A medida que el renacuajo se convierte en una rana, las células de la cola son inducidas a presentar apoptosis. Todas las modificaciones que se producen durante la metamorfosis, incluida la inducción de apoptosis en la cola del renacuajo, son estimuladas por un incremento del nivel sanguíneo de hormona tiroidea.

lesivas de la necrosis celular y permite que el fagocito recicle los componentes de la célula apoptótica.

La maquinaria responsable de la apoptosis parece ser similar en todas las células animales. Interviene la familia de proteasas **caspasa**, cuyos miembros se producen como precursores inactivos, denominados *procaspasas*. Por lo general, las procaspasas son activadas por la escisión proteolítica en respuesta a señales que inducen apoptosis. Las caspasas activadas escinden, y por ende activan, a otros miembros de la familia de procaspasas, lo que determina la amplificación de la cascada proteolítica (**Fig. 18-39**). Estas enzimas también degradan otras proteínas clave de la célula. Por ejemplo, una de las caspasas hidroliza las proteínas laminas, que forman la lámina nuclear subyacente a la envoltura nuclear; este proceso determina la ruptura irreversible de la lámina nuclear (véase Fig. 18-31). De esta manera, la células se desmantela a sí misma de forma rápida y limpia, y sus restos pronto son incorporados y digeridos por otra célula.

PREGUNTA 18-10

¿Por qué cree que el mecanismo de la apoptosis difiere del de la muerte celular que se produce en la necrosis? ¿Qué podría suceder si la apoptosis no tuviera lugar de una manera tan precisa y ordenada que determina que las células se destruyan desde su interior sin derramar su contenido al espacio extracelular?

Al igual que el ingreso en una nueva fase del ciclo celular, la activación del programa de apoptosis se suele desencadenar en una forma todo o nada. La cascada proteolítica no sólo es destructiva y se autoamplifica, sino que también es irreversible: una vez que la célula llega a un punto crítico de la vía hacia la destrucción, no puede volver atrás. Por lo tanto, es importante el control estricto de la decisión de morir.

El programa de muerte celular está regulado por la familia de proteínas intracelulares Bcl2

Todas las células animales nucleadas contienen las semillas de su propia destrucción: en estas células, las procaspasas inactivas aguardan una señal para destruir la célula. Por lo tanto, no es sorprendente que la actividad de las caspasas esté rigurosamente regulada dentro de la célula garantizando que el programa de muerte permanezca frenado hasta que sea necesario.

Las principales proteínas que regulan la activación de las procaspasas son miembros de la **familia Bcl2** de proteínas intracelulares. Algunos miembros de esta

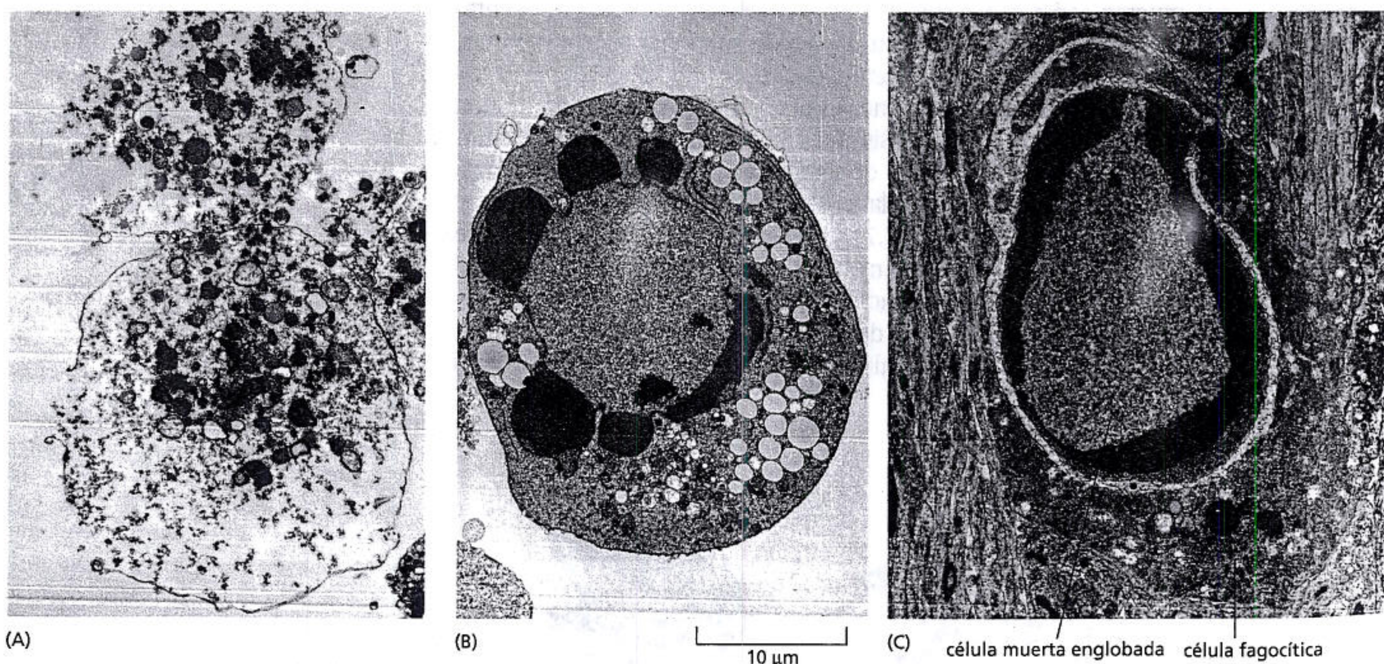
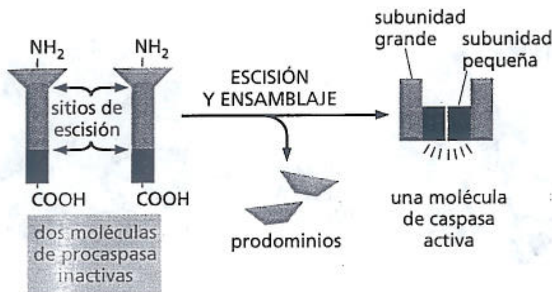


Figura 18-38. Las células que presentan apoptosis mueren en forma rápida y limpia. Microfotografías electrónicas que muestran células que murieron por necrosis (A) o por apoptosis (B y C). En (A) y (B), las células murieron en una placa de cultivo, mientras que la célula de (C) murió en un tejido en desarrollo y fue fagocitada por otra célula. Obsérvese que la célula de (A) parece haber explotado, mientras que las de (B) y (C) se han condensado, pero impresionan relativamente indemnes. Las vacuolas de gran tamaño presentes en el citoplasma de la célula en (B) representan un hallazgo inconstante relacionado con la apoptosis. (Cortesía de Julia Burne).



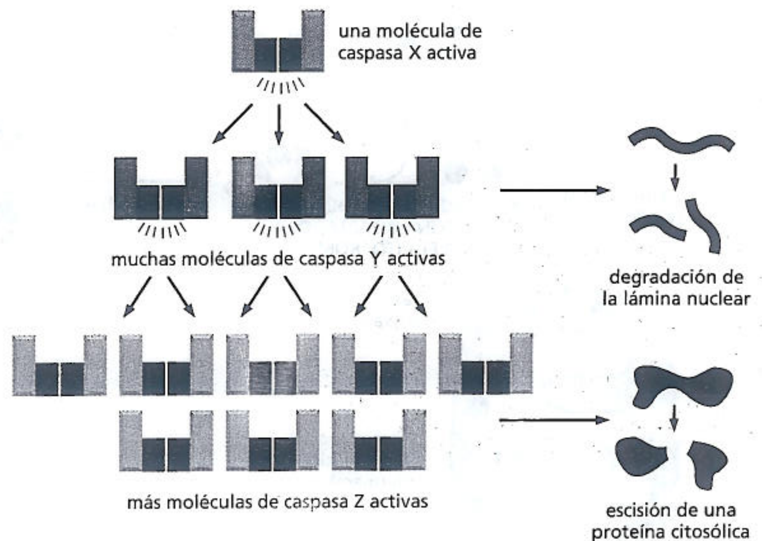


Figura 18-39. La apoptosis está mediada por una cascada proteolítica intracelular. (A) Cada proteasa suicida (caspasa) se sintetiza como una proenzima inactiva o procaspasa, que a menudo se autoactiva mediante una escisión proteolítica catalizada por otro miembro de la misma familia de proteasas: dos fragmentos escindidos de cada una de las dos moléculas de procaspasa se asocian y forman una caspasa activa, que está compuesta por dos subunidades pequeñas y dos subunidades grandes; por lo general, se desechan los dos prodominios. (B) Luego, cada molécula de caspasa activada puede escindir numerosas moléculas de procaspasa, lo que las activa y les permite activar aun más moléculas de procaspasa. De esta manera, la activación inicial de una pequeña cantidad de moléculas de proteasa puede inducir, mediante una reacción de amplificación en cadena (una cascada), la activación explosiva de gran cantidad de moléculas de proteasa. Después, algunas de las caspasas activadas degradan una serie de proteínas clave de la célula, como las laminas nucleares, lo que provoca la muerte controlada de la célula.

familia promueven la activación de caspasas y la muerte celular, mientras que otras inhiben esos procesos. Dos de los miembros promotores de muerte celular más importantes de la familia son las proteínas denominadas *Bax* y *Bak*. Éstas activan las procaspasas en forma indirecta al inducir la liberación de citocromo *c* de las mitocondrias al citosol. El citocromo *c* promueve el ensamblaje de una estructura de siete brazos similar a un molinete que recluta moléculas de procaspasa específicas y forma un complejo proteico denominado *apoptosoma*, que desencadena una cascada de caspasas que inducen apoptosis (**Fig. 18-40**). Las proteínas Bax y Bak propiamente dichas son activadas por otros miembros de la familia Bcl2 promotores de muerte celular, producidos o activados por diversas agresiones celulares, como el daño del DNA.

Otros miembros de la familia Bcl2, incluida la propia Bcl-2, inhiben la activación de las procaspasas y la apoptosis en lugar de promoverla. Uno de los mecanismos para hacerlo consiste en bloquear la capacidad de Bax y Bak para liberar citocromo *c* de las mitocondrias. Algunos miembros de la familia Bcl2 que promueven la apoptosis, como una proteína llamada Bad, se unen a Bcl2 y bloquean su actividad y la de otros miembros de la familia Bcl2 que inhiben la muerte celular (véase Fig. 16-34). El equilibrio entre las actividades de los miembros proapoptóticos y antiapoptóticos de la familia Bcl2 determina, en gran medida, si una célula de mamífero vive o muere por apoptosis.

El programa de muerte intracelular también es regulado por señales provenientes de otras células, que pueden activarlo o suprimirlo. De hecho, la supervivencia, la división y el crecimiento celulares están regulados por señales extracelulares que, en conjunto, ayudan a los organismos pluricelulares a controlar la cantidad y el tamaño celular, como se considera a continuación.

Las células animales requieren señales extracelulares para dividirse, crecer y sobrevivir

Los organismos unicelulares, como las bacterias y las levaduras, tienden a crecer y a dividirse con la mayor rapidez posible y su velocidad de proliferación depende, en gran medida, de la disponibilidad de nutrientes en el medio. Por el contrario, las células de un organismo pluricelular son controladas de manera que una célula individual sobrevive sólo cuando es necesaria y se divide sólo cuando se requiere otra célula, lo que permite el crecimiento tisular o el reemplazo de células perdidas. En el crecimiento de los tejidos o la reposición, las células deben crecer antes de dividirse. Así, una célula animal sobrevive, crece o se divide no solo por

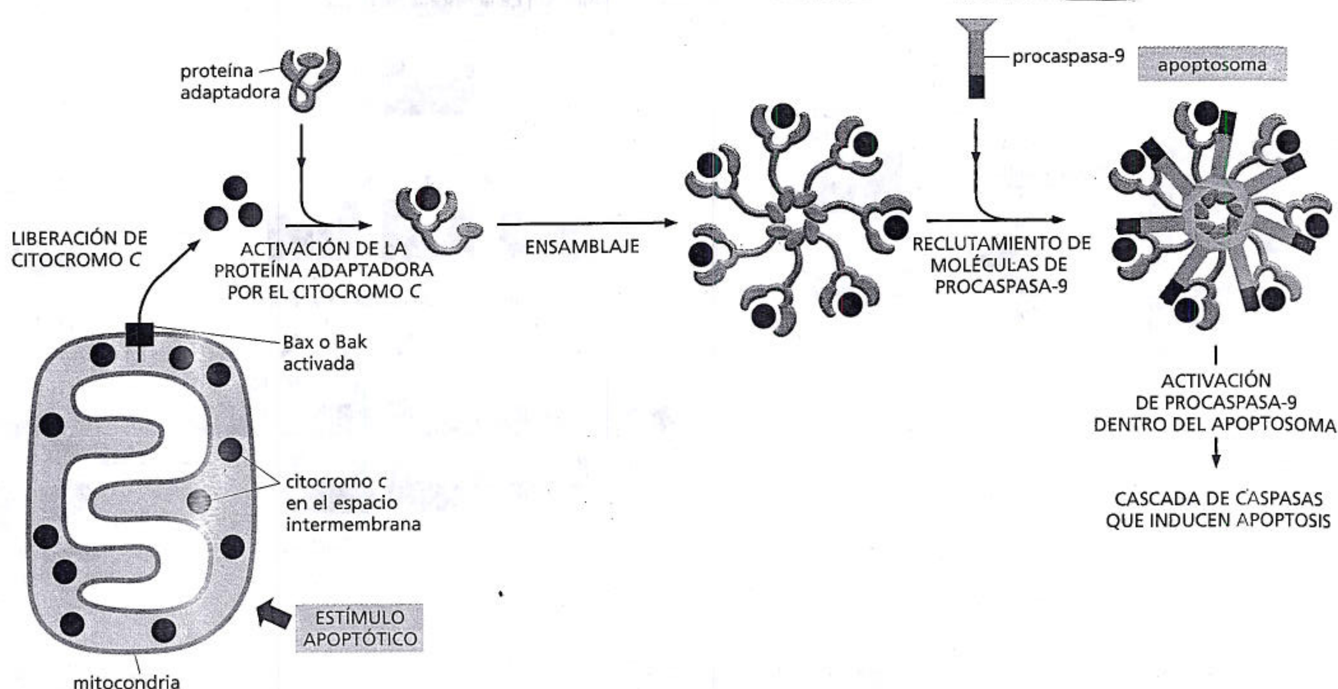


Figura 18-40. Bax y Bak son miembros promotores de muerte de la familia Bc12 de proteínas intracelulares que pueden desencadenar apoptosis liberando el citocromo c de las mitocondrias. Cuando se activan Bak o Bax por un estímulo apoptótico, ésta se agrega en la membrana mitocondrial externa, lo que induce la liberación del citocromo c por un mecanismo desconocido. El citocromo c es liberado al citosol desde el espacio intermembrana de la mitocondria (junto con otras proteínas de este espacio; no mostradas). Después, el citocromo c se une a una proteína adaptadora, que hace que se ensamble en un complejo de siete brazos. A continuación, este complejo recluta siete moléculas de una procaspasa específica (denominada procaspasa-9) y forma una estructura denominada apoptosoma. Las proteínas procaspasa-9 se activan dentro del apoptosoma y, ahora, activan diferentes procaspasas del citosol, lo que determina una cascada de caspasas y apoptosis.

la presencia de nutrientes sino también al recibir señales químicas provenientes de otras células, en general sus vecinas.

La mayoría de las moléculas de señalización extracelular que influyen en la supervivencia, el crecimiento y la división de las células son proteínas solubles secretadas por otras células o proteínas unidas a la superficie de otras células o a la matriz extracelular. Aunque la mayoría de ellas actúan positivamente estimulando uno o más de estos procesos celulares, algunas ejercen una acción negativa inhibiendo un determinado proceso. Las proteínas de señalización que ejercen una acción positiva se pueden dividir, de acuerdo con su función, en tres clases principales:

1. Los **factores de supervivencia**, que promueven la supervivencia celular, en gran medida, por supresión de la apoptosis.
2. Los **mitógenos**, que estimulan la división celular, fundamentalmente al contrarrestar los mecanismos intracelulares de freno que tienden a bloquear la progresión a lo largo del ciclo celular.
3. Los **factores de crecimiento**, que estimulan el crecimiento celular (aumento del tamaño y de la masa celular) mediante la promoción de la síntesis y la inhibición de la degradación de proteínas y otras macromoléculas.

Estas categorías no se excluyen mutuamente, ya que numerosas moléculas de señalización cumplen más de una de las funciones mencionadas. Lamentablemente, el término 'factor de crecimiento' se utiliza con frecuencia en forma incorrecta para significar un aumento de la cantidad de células, cuya denominación más correcta es 'proliferación celular'.

A continuación, se examinará cada uno de estos tipos de moléculas de señalización por separado.

Las células animales requieren factores de supervivencia que evitan la apoptosis

Las células animales necesitan señales provenientes de otras células para sobrevivir. En ausencia de estos factores de supervivencia, las células activan el programa de suicidio intracelular y mueren por apoptosis. Esta necesidad de señales de otras células ayuda a garantizar que las células sólo sobrevivan en el momento y en el lugar que son necesarias. Por ejemplo, las neuronas son producidas en exceso en el sistema nervioso en desarrollo y, después, compiten por una cantidad limitada de factores de supervivencia secretados por las células diana con las

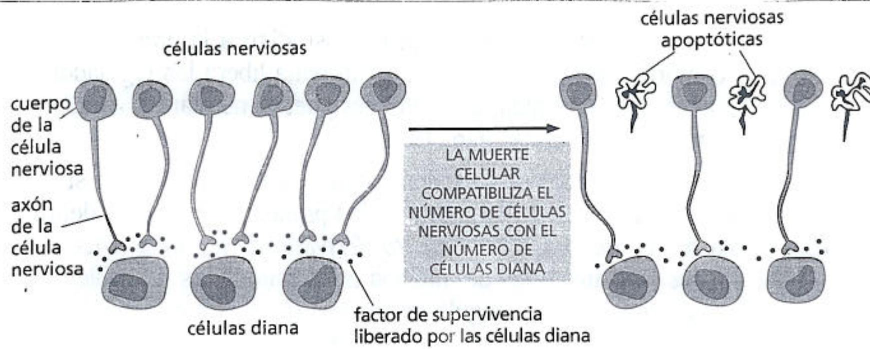


Figura 18-41. La muerte celular ayuda a ajustar la cantidad de células nerviosas en desarrollo respecto de la de células diana con las que establecen contacto. Se producen más células nerviosas de las que pueden ser mantenidas por la cantidad limitada de factor de supervivencia liberado por las células diana. Por lo tanto, algunas células reciben cantidades insuficientes de factor de supervivencia como para mantener suprimido su programa de suicidio y, en consecuencia, presentan apoptosis. Esta estrategia de sobreproducción seguida de sacrificio garantiza que las células nerviosas alcancen todas las células diana, y que todas las células nerviosas 'extra' sean eliminadas en forma automática.

que entran en contacto. Las células nerviosas que obtienen una cantidad suficiente de factores de supervivencia viven, mientras que las restantes mueren por apoptosis. Así, el número de células nerviosas que sobreviven se ajusta de manera automática y apropiada a la cantidad de células con las que establecen sinapsis (**Fig. 18-41**). Se considera que una dependencia similar respecto de señales de supervivencia provenientes de células vecinas controla la cantidad de células en otros tejidos, tanto durante el desarrollo como en el organismo adulto.

Por lo general, los factores de supervivencia se unen a receptores de la superficie celular. Después, estos receptores activados activan vías de señalización intracelular que mantienen inhibido el programa de muerte celular, en general mediante la regulación de miembros de la familia de proteínas Bcl2. Por ejemplo, algunos factores de supervivencia aumentan la producción de Bcl2, una proteína que suprime la apoptosis (**Fig. 18-42**).

Los mitógenos estimulan la división celular

La mayoría de los mitógenos son proteínas de señalización secretadas que se unen a receptores de la superficie celular. Cuando son activados por la unión del mitógeno, estos receptores inician diversas vías de señalización intracelular que estimulan la división celular (véase capítulo 16). Esas vías de señalización actúan, principalmente, mediante la eliminación de los frenos moleculares intracelulares que bloquean la transición de la fase G_1 del ciclo celular a la fase S.

Un ejemplo importante de este tipo de freno molecular es la *proteína del retinoblastoma (Rb)*, identificada por primera vez durante el estudio de un tumor ocular infantil raro denominado retinoblastoma, en el que la proteína Rb está ausente o es defectuosa. Esta proteína Rb, que abunda en el núcleo de todas las células de los vertebrados, se une a ciertos reguladores de la transcripción e impide que estimulen la transcripción de genes que participan en la proliferación celular. Los mitógenos liberan el mecanismo de freno de la Rb mediante la activación de vías de señalización intracelular que inducen la activación de los complejos Cdk de G_1

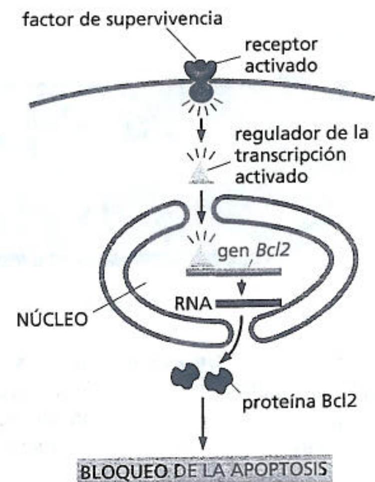


Figura 18-42. Los factores de supervivencia a menudo suprimen la apoptosis por regulación de los miembros de la familia Bcl-2. En este caso, el receptor activado activa un regulador de la transcripción en el citosol. La proteína se desplaza al núcleo, donde activa el gen que codifica la proteína Bcl-2, que inhibe la apoptosis.

y Cdk de G_1/S mencionados. Estos complejos fosforilan a la proteína Rb, lo que modifica su conformación de manera que la proteína libera los reguladores de la transcripción a los que está unida, que entonces pueden activar los genes que participan en la proliferación celular (Fig. 18-43).

La mayoría de los mitógenos se han identificado y caracterizado por sus efectos sobre células en cultivo (Fig. 18-44). Uno de los primeros mitógenos identificados de esta forma fue el *factor de crecimiento derivado de las plaquetas*, o *PDGF*, que ejerce efectos similares a los de muchos otros mitógenos descubiertos desde entonces. Cuando se forma un coágulo sanguíneo (p. ej., en una herida), se estimula las plaquetas incorporadas al coágulo para que liberen PDGF. Después, el PDGF se une a receptores tirosincinasas (véase capítulo 16) de las células sobrevivientes en el sitio de la herida y las estimula a proliferar contribuyendo a la curación de la herida. De modo similar, si una intervención quirúrgica o un traumatismo agudo causan pérdida parcial del hígado, las células hepáticas y de otras partes del organismo elaboran una proteína llamada *factor de crecimiento hepatocítico* que estimula la proliferación de las células hepáticas sobrevivientes.

Los factores de crecimiento extracelulares estimulan el crecimiento celular

El crecimiento de un organismo o de un órgano depende tanto del crecimiento como de la división celular. Si las células se dividieran sin crecer, se tornarían cada

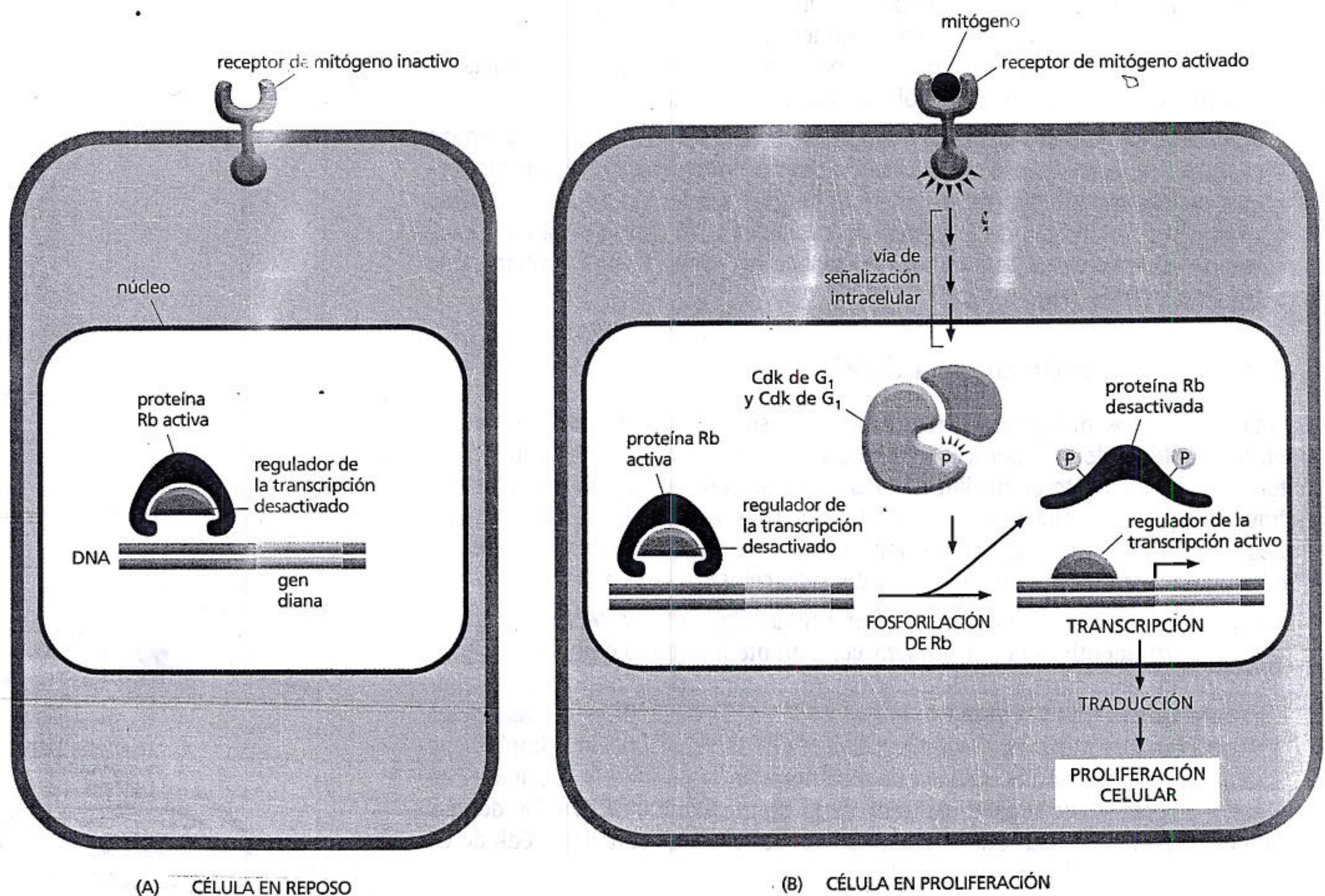


Figura 18-43. Uno de los mecanismos por el que los mitógenos estimulan la proliferación celular es la inhibición de la proteína Rb (A) En ausencia de mitógenos, la proteína Rb desfosforilada mantiene a determinados reguladores de la transcripción en estado inactivo; estos reguladores de la transcripción son necesarios para estimular la transcripción de genes diana que codifican las proteínas requeridas para la proliferación celular. (B) Los mitógenos se unen a receptores de la superficie celular y activan vías de señalización intracelular que inducen la formación y la activación de los complejos Cdk de G_1 y Cdk de G_1/S. Estos complejos fosforilan, y por ende desactivan, a la proteína Rb. Ahora, los reguladores de la transcripción pueden activar la transcripción de sus genes diana, lo que determina proliferación celular.

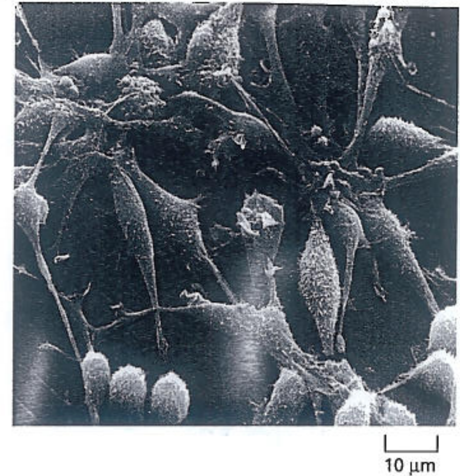


Figura 18-44. Proliferación de fibroblastos de rata en respuesta a factores de crecimiento y mitógenos. Las células de esta microfotografía electrónica de barrido están cultivadas en presencia de suero de ternero, que contiene factores de crecimiento y mitógenos que estimulan el crecimiento y la proliferación celulares. Las células esféricas que se observan en la parte inferior de la figura se han redondeado en preparación para la división celular (véase Fig. 18-34). (Cortesía de Guenter Albrecht-Buehler).

vez más pequeñas y no habría un aumento de la masa celular total. En organismos unicelulares como las levaduras, el crecimiento celular (así como la división) sólo requiere nutrientes. Por el contrario, en los animales, tanto el crecimiento como la división celular dependen de señales provenientes de otras células. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con la división celular, el crecimiento no depende del sistema de control del ciclo celular, ni en las levaduras ni en las células animales. De hecho, muchas células animales –por ejemplo, las células nerviosas y la mayoría de las células musculares– presentan la mayor parte de su crecimiento después de que se han especializado y han dejado de dividirse en forma definitiva.

Al igual que la mayoría de los factores de supervivencia y mitógenos, los factores de crecimiento se unen a receptores de superficie celular que activan diversas vías de señalización intracelular. Estas vías inducen la acumulación de proteínas y otras macromoléculas mediante el aumento de su velocidad de síntesis y la disminución de su velocidad de degradación (Fig. 18-45). Algunas proteínas de señalización extracelular, como el PDGF, pueden actuar como factores de crecimiento y como mitógenos, y de esa manera estimulan tanto el crecimiento celular como la progresión a través del ciclo celular. Estas proteínas ayudan a asegurar que las células conserven su tamaño apropiado a medida que proliferan.

En comparación con la división celular, los estudios que examinan los mecanismos de control del tamaño celular en los animales son escasos. Como resultado, aún se desconocen las causas por las que los distintos tipos de células de un mismo animal alcanzan tamaños tan diferentes (Fig. 18-46).

Algunas proteínas de señalización extracelular inhiben la supervivencia, la división o el crecimiento celulares

Las proteínas de señalización extracelular analizadas hasta ahora –factores de supervivencia, mitógenos y factores de crecimiento– estimulan el aumento de tamaño de los órganos y de los organismos. Sin embargo, algunas proteínas de señalización extracelular ejercen una acción que se opone a la de estos reguladores positivos y, por lo tanto, inhiben el crecimiento tisular. Por ejemplo, la *miostatina* es una proteína de señalización que en condiciones normales inhibe el crecimiento y la proliferación de los mioblastos que se fusionan formando células de músculo esquelético durante el desarrollo de los mamíferos. En ratones con una deleción del gen que codifica la miostatina, los músculos crecen hasta alcanzar un tamaño varias veces mayor que el normal como resultado del aumento de la cantidad y del tamaño de las células musculares. Cabe señalar que, en dos razas de bovinos criadas con la finalidad de que desarrollaran músculos de gran tamaño, se detectaron mutaciones del gen que codifica miostatina (Fig. 18-47).

Como se analiza en el último capítulo, el cáncer también es consecuencia de mutaciones que liberan a las células de los controles 'sociales' normales que actúan sobre su supervivencia, crecimiento y proliferación. Como las células cancerosas suelen ser menos dependientes que las normales de las señales de otras células, pueden sobrevivir, crecer y dividirse más que sus vecinas normales, lo que da origen a tumores potencialmente fatales.

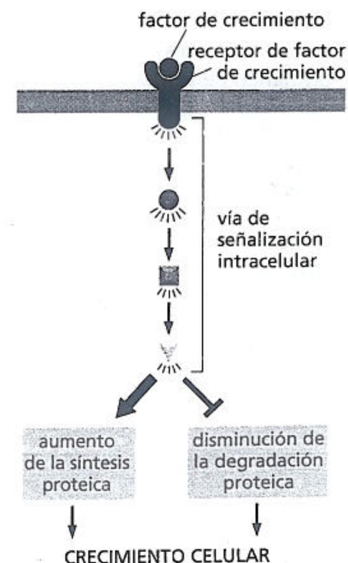


Figura 18-45. Los factores de crecimiento extracelulares aumentan la síntesis de macromoléculas y disminuyen su degradación. Esto induce un aumento neto de la cantidad de macromoléculas y, en consecuencia, del crecimiento celular (véase también Fig. 16-35).

En este capítulo, cuando se ha examinado la división celular, siempre se ha hecho referencia a las divisiones comunes que producen dos células hijas, cada una con un complemento completo e idéntico del material genético de la célula progenitora. Sin embargo, hay un tipo diferente y muy especializado de división celular, denominado *meiosis*, que se requiere para la reproducción sexual de los eucariontes. En el siguiente capítulo, se describen las características especiales de la meiosis y cómo son la base de los principios genéticos que definen las leyes de la herencia.

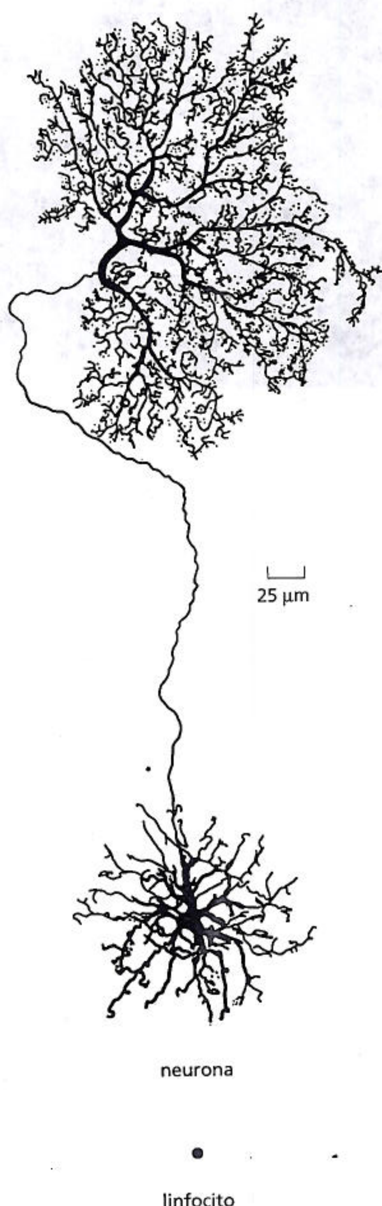


Figura 18-46. El tamaño de una célula nerviosa es muy diferente de un linfocito. Estos dos tipos de células, dibujados a igual escala, provienen de la misma especie de mono y contienen la misma cantidad de DNA. Una neurona aumenta de tamaño en forma progresiva después de que ha dejado permanentemente de dividirse. Durante este período, la relación entre el citoplasma y el DNA aumenta muchísimo, por un factor de más de 10^5 en algunas neuronas. (Neurona de B. B. Boycott en Essays on the Nervous System [R. Bellairs y E. G. Gray, eds.]. Oxford, U. K.: Clarendon Press, 1974. Con autorización de Oxford University Press).

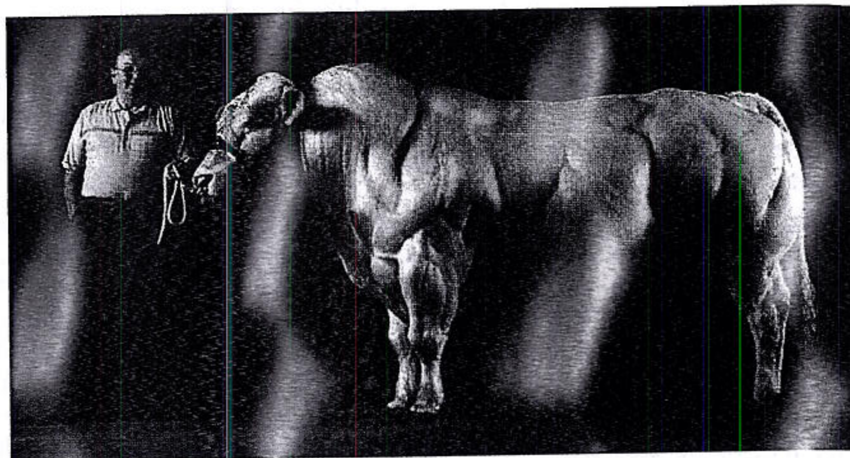


Figura 18-47. La mutación del gen de miostatina induce un aumento notable de la masa muscular. Este espécimen de la raza Belgian Blue fue producido por criadores de bovinos, pero sólo más tarde se descubrió que tenía una mutación del gen de miostatina. Los ratones con una deficiencia de este mismo gen provocada experimentalmente también tienen músculos notoriamente voluminosos. (De HL Sweeney, *Sci. Am.* 291:62-69, 2004. Con autorización de Scientific American).

CONCEPTOS ESENCIALES

- El ciclo celular eucarionte consisten en varias fases distintas. Éstas comprenden la fase S, durante la cual se replica el DNA nuclear y, la fase M, durante la cual se dividen el núcleo (mitosis) y, después, el citoplasma (citocinesis).
- En la mayoría de las células, hay una fase de intervalo o gap (G_1) entre las fases M y S, y otra (G_2) entre las fases S y M. Estos intervalos le dan más tiempo a la célula para que crezca y se prepare para los acontecimientos de la fase S y la fase M.
- El sistema de control del ciclo celular coordina los acontecimientos del ciclo celular mediante la activación y la desactivación secuenciales y cíclicas de los componentes apropiados de la maquinaria del ciclo celular.
- El sistema de control depende de un grupo de proteincinasas, cada una de ellas formada por una subunidad reguladora denominada ciclina y una subunidad catalítica llamada proteincinasa dependiente de ciclinas (Cdk).
- Las concentraciones de ciclina aumentan y declinan en momentos específicos del ciclo celular, lo que contribuye a desencadenar los acontecimientos del ciclo. Las Cdk son activadas cíclicamente por la unión de ciclina y la fosforilación de algunos aminoácidos y la desfosforilación de otros; cuando están activadas, las Cdk fosforilan proteínas clave de la célula.
- Distintos complejos ciclina-Cdk activan diferentes pasos del ciclo celular: Cdk de M impulsa la célula a la mitosis; Cdk de G_1 la impulsa a través de G_1, y Cdk de G_1/S y Cdk de S la impulsa a la fase S.
- El sistema de control también utiliza complejos proteicos que desencadenan la proteólisis de reguladores específicos del ciclo celular en determinadas etapas.
- El sistema de control del ciclo celular puede detener el ciclo en puntos de control específicos lo que asegura que las condiciones intracelulares y extracelulares

sean favorables, y que el siguiente paso no se inicie antes de que haya finalizado el anterior. Algunos de estos puntos de control dependen de inhibidores de las Cdk que bloquean la actividad de uno o más complejos ciclina-Cdk.

- La Cdk de S inicia la replicación del DNA durante la fase S y ayuda a asegurar que el genoma se copie una sola vez. Los puntos de control en G_1, la fase S y G_2 impiden que las células repliquen DNA dañado.
- La Cdk de M impulsa la célula a la mitosis con el ensamblaje del huso mitótico basado en microtúbulos, que trasladará a los cromosomas hijos a los polos opuestos de la célula.
- Los microtúbulos crecen de los centrosomas duplicados y algunos interactúan con microtúbulos que crecen desde el polo opuesto; así se transforman en microtúbulos interpolares que forman el huso.
- Los centrosomas, las proteínas motoras asociadas con los microtúbulos y los propios cromosomas replicados trabajan juntos y ensamblan el huso.
- Cuando la envoltura nuclear se rompe, los microtúbulos del huso invaden la región nuclear y capturan los cromosomas replicados. Los microtúbulos se unen a complejos proteicos, denominados cinetocoros, asociados con el centrómero de cada cromátida hermana.
- Los microtúbulos de polos opuestos traccionan en direcciones opuestas a cada cromosoma replicado, esto los lleva al ecuador del huso mitótico.
- La separación súbita de las cromátidas hermanas permite que los cromosomas hijos resultantes sean arrastrados a polos opuestos por el huso. Los dos polos también se separan, lo que aleja aun más a los dos grupos de cromosomas.
- El movimiento de los cromosomas por el huso es impulsado tanto por las proteínas motoras de los microtúbulos como por la polimerización y la despolimerización de éstos.
- Se vuelve a formar una envoltura nuclear alrededor de los dos grupos de cromosomas segregados y se forman dos nuevos núcleos, lo que completa la mitosis.
- El complejo de Golgi se rompe en numerosos fragmentos pequeños durante la fase M, y asegura una distribución uniforme entre las células hijas.
- En las células animales, la división citoplasmática es mediada por un anillo contráctil de filamentos de actina y filamentos de miosina, que se forma a mitad de camino entre los polos del huso y se contrae dividiendo al citoplasma en dos; en las células vegetales, en cambio, la división celular se produce por formación de una nueva pared celular dentro de la célula madre, que divide el citoplasma.
- La cantidad de células animales es regulada por una combinación de programas intracelulares y señales extracelulares que controlan la supervivencia, el crecimiento y la proliferación celular.
- Muchas células normales mueren por apoptosis durante la vida de un animal; lo hacen mediante la activación de un programa interno de suicidio y autodestrucción.
- La apoptosis depende de una familia de enzimas proteolíticas llamadas caspasas, que se producen como precursores inactivos (procaspasas). Las propias procaspasas suelen ser activadas por degradación proteolítica mediada por caspasas.
- La mayoría de las células animales requieren señalización continua de otras células que evitan la apoptosis; este mecanismo garantiza que las células sólo sobrevivan en el momento y lugar en que son necesarias.
- Las células animales sólo proliferan si son estimuladas por mitógenos extracelulares producidos por otras células, lo que asegura que una célula se divida sólo cuando se necesita otra célula; los mitógenos activan vías de señalización intracelular que contrarrestan los frenos moleculares normales que, de lo contrario, bloquean la progresión del ciclo celular.
- Para que un organismo o un órgano crezca, las células además de dividirse deben aumentar de tamaño. El crecimiento de las células animales depende de factores de crecimiento extracelulares que estimulan la síntesis e inhiben la degradación de las proteínas.
- El tamaño de las células y los tejidos también puede ser afectado por proteínas de señalización extracelular inhibitorias que ejercen acciones opuestas a las de

los reguladores positivos de la supervivencia, el crecimiento y la división celular.

- Las células cancerosas no obedecen estos controles 'sociales' normales del comportamiento celular y, por lo tanto, pueden crecer, proliferar y sobrevivir en exceso respecto de sus vecinas normales.

PALABRAS CLAVE

anafase
apoptosis
áster
biorientación
caspasa
Cdk (proteincinasa dependiente de ciclinas)
Cdk de G_1
Cdk de G_1/S
Cdk de M
Cdk de S
centrosoma
ciclina
ciclina G_1/S
ciclina M
ciclina S
ciclo celular
ciclo del centrosoma
cinetocoro
citocinesis
cohesina
complejo de reconocimiento de origen (ORC)
complejo promotor de la anafase
condensación de los cromosomas
condensina
cromátida hermana
factor de crecimiento
factor de supervivencia
familia Bcl2
fase G_1
fase G_2
fase M
fase S
fragmoplasto
G_1 ciclina
huso mitótico
interfase
metafase
mitógeno
mitosis
muerte celular programada
p53
polo del huso
prometafase
profase
proteína inhibidora de las Cdk
punto de control
sistema de control del ciclo celular
telofase

PREGUNTAS

PREGUNTA 18-11

En términos aproximados, ¿cuánto tardaría un cigoto en producir un grupo de células que pesara 70 kg mediante divisiones celulares sucesivas si cada célula pesa 1 nanogramo inmediatamente después de la división celular y cada ciclo celular dura 24 horas? ¿Por qué demanda mucho más tiempo formar un ser humano adulto de 70 kg?

PREGUNTA 18-12

Los ciclos celulares eucariontes más cortos de todos –más cortos aun que los de muchas bacterias– se producen en una fase temprana de muchos embriones animales. Estas divisiones de segmentación tienen lugar sin un aumento significativo del peso del embrión. ¿Cómo puede ser esto? ¿Qué fase del ciclo celular esperaría que fuera la más reducida?

PREGUNTA 18-13

Uno de los efectos biológicos importantes de una dosis elevada de radiación ionizante es la interrupción de la división celular.

A. ¿A qué se debe este fenómeno?

B. ¿Qué sucede si una célula presenta una mutación que le impide detener la división celular después de ser irradiada?

C. ¿Cuáles podrían ser los efectos de una mutación de este tipo si no se irradiara la célula?

D. Un hombre que alcanzó la madurez fallece a los pocos días de recibir una dosis de radiación de suficiente magnitud para interrumpir la división celular. ¿Qué conclusión puede extraer de esta observación (aparte de que se deben evitar altas dosis de radiación)?

PREGUNTA 18-14

Si se hacen crecer células en un medio de cultivo que contiene timidina radiactiva, ésta será incorporada en forma covalente al DNA de las células durante la fase S. El DNA radiactivo se puede detectar en los núcleos de células individuales mediante autorradiografía (es decir, colocando una emulsión fotográfica sobre las células, las células radiactivas activarán la emulsión y cuando se las observe al microscopio estarán marcadas por puntos negros). Considere un experimento simple en el que se marcan radiactivamente las células mediante este método durante un breve lapso (alrededor de 30 minutos). Después, se reemplaza el medio de timidina radiactiva por otro que contiene timidina sin marcar, y se deja crecer las células durante un período adicional. Después de reemplazar el medio, las células se examinan con el microscopio en distintos puntos cronológicos. Luego, se determina la fracción de células en mitosis (que se pueden reconocer con facilidad por la condensación de sus cromosomas) que muestran DNA radiactivo en los núcleos, y se la grafica en función del tiempo transcurrido desde la marcación con timidina radiactiva (Fig. P18-14).

A. ¿Sería esperable que todas las células (incluidas las células en las otras fases del ciclo celular) contuvieran DNA radiactivo después del procedimiento de marcación?

B. Inicialmente, no hay células mitóticas que contengan DNA radiactivo. ¿A qué se debe?

C. Explique el ascenso, el descenso y el nuevo ascenso de la curva.

D. Estime la duración de la fase G_2 a partir de este gráfico.

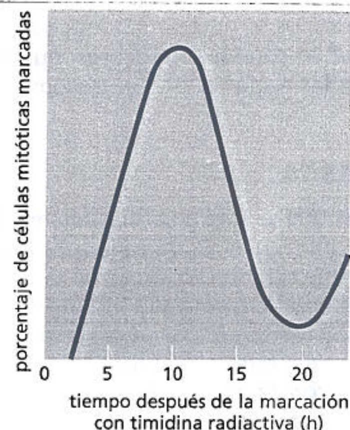


Figura P18-14

PREGUNTA 18-15

Una de las funciones de Cdk de M es inducir un descenso brusco de la concentración de ciclina en la mitad de la fase M. Describa las consecuencias de esta disminución súbita y sugiera los posibles mecanismos responsables de este fenómeno.

PREGUNTA 18-16

La figura 18-5 ilustra el aumento de la concentración de ciclina y la actividad de Cdk de M en las células a medida que avanzan por el ciclo celular. Es notable que la concentración de ciclina aumenta en forma lenta y sostenida, mientras que la actividad de Cdk de M se eleva en forma brusca. ¿A qué atribuye esta diferencia?

PREGUNTA 18-17

¿Cuál es el orden de los siguientes acontecimientos que se producen durante la división celular?

A. Anafase

B. Metafase

C. Prometafase

D. Telofase

E. Fase lunar

F. Mitosis

G. Profase

¿En cuál de estas etapas se produce la citocinesis?

PREGUNTA 18-18

El tiempo de vida de un microtúbulo en una célula de mamífero, desde su formación por polimerización hasta su desaparición espontánea por despolimerización, varía según la etapa del ciclo celular. Para una célula que prolifera en forma activa, el tiempo de vida promedio es de 5 minutos en la interfase y de 15 segundos en la mitosis. Si la longitud promedio de un microtúbulo en interfase es de 20 μm, ¿cuál será su longitud durante la mitosis si se asume que la velocidad de elongación del microtúbulo debida a la adición de subunidades de tubulina es la misma en las dos fases?

PREGUNTA 18-19

Se piensa que el equilibrio entre las proteínas motoras dirigidas al extremo más y al extremo menos que se unen a los microtúbulos interpolares en la región de superposición del huso mitótico ayuda a determinar la longitud del huso. ¿De qué manera podría contribuir cada tipo de proteína motora a la determinación de la longitud del huso mitótico?

PREGUNTA 18-20

Esquematice las principales etapas de la mitosis, con la lámina 18-1 (pp. 626-627) como guía. Coloree una cromátida hermana y sígala durante la mitosis y la citocinesis. ¿Qué suceso asigna a esta cromátida para que sea una célula hija determinada? Una vez asignada inicialmente, ¿se puede revertir su destino? ¿Qué factores podrían influir en esta asignación?

PREGUNTA 18-21

El desplazamiento polar de los cromosomas durante la anafase A se asocia con el acortamiento de los microtúbulos. En particular, los microtúbulos se despolimerizan en los extremos por los que están unidos a los cinetocoros. Esquematice un modelo que explique de qué manera un microtúbulo puede acortarse y generar fuerza pese a permanecer firmemente unido al cromosoma.

PREGUNTA 18-22

En raras ocasiones, las dos cromátidas hermanas de un cromosoma replicado terminan en una sola célula hija. ¿Cómo podría suceder esto? ¿Cuál sería la consecuencia de semejante error de la mitosis?

PREGUNTA 18-23

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. Los centrosomas se replican antes de que comience la fase M.

B. Las dos cromátidas hermanas se originan por replicación del DNA del mismo cromosoma y permanecen apareadas mientras se alinean en la placa metafásica.

C. Los microtúbulos intepolares se unen en forma terminoterminal y, por ende, se continúan de un polo del huso al otro.

D. Tanto la polimerización y la despolimerización de los microtúbulos como las proteínas motoras de los microtúbulos son necesarias para la replicación del DNA.

E. Los microtúbulos se nuclean en los centrómeros y, después, se conectan con los cinetocoros, que son estructuras localizadas en las regiones del centrosoma de los cromosomas.

PREGUNTA 18-24

Un anticuerpo que se une a la miosina impide el desplazamiento de las moléculas de miosina a lo largo de los filamentos de actina (la interacción entre la actina y la miosina se describe en el capítulo 17). ¿Cómo supone que el anticuerpo ejerce este efecto? ¿Cuál sería el resultado de inyectar este anticuerpo en células (A) sobre el desplazamiento de los cromosomas en la anafase o (B) sobre la citocinesis? Fundamente sus respuestas.

PREGUNTA 18-25

Observe con cuidado las microfotografías electrónicas de la figura 18-38. Describa las diferencias entre la célula que murió por necrosis y las células que murieron por apoptosis. ¿De qué manera las imágenes confirman las diferencias entre ambos procesos? Fundamente su respuesta.

PREGUNTA 18-26

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. Las células no pasan de la fase G_1 a la fase M del ciclo celular salvo que haya suficientes nutrientes para completar todo un ciclo celular.

B. La apoptosis está mediada por proteasas intracelulares especiales, una de las cuales degrada las laminas nucleares.

C. Las neuronas en desarrollo compiten por una cantidad limitada de factores de supervivencia.

D. Algunas proteínas que controlan el ciclo celular de los vertebrados funcionan cuando son expresadas en células de levadura.

E. Es posible estudiar mutantes de levadura defectuosos en proteínas que controlan el ciclo celular, pese a que estas proteínas son esenciales para la vida de la célula.

F. La actividad enzimática de una proteína Cdk depende de la unión de una ciclina y del estado de fosforilación de la Cdk.

PREGUNTA 18-27

Compare las reglas de comportamiento celular en un animal con las reglas que rigen el comportamiento humano en sociedad. ¿Qué le sucedería a un animal si las células se comportaran como lo hacen normalmente las personas en nuestra sociedad? ¿Se podrían aplicar las reglas que rigen el comportamiento celular a las a las sociedades humanas?

PREGUNTA 18-28

En su laboratorio de investigación ultrasecreto, el Dr. Lawrence M tiene la tarea de desarrollar una cepa de ratas del tamaño de un perro para infiltrarlas en las líneas enemigas. En su opinión, ¿cuál de las siguientes estrategias debería seguir el Dr. M. para aumentar el tamaño de las ratas?

A. Bloquear toda la apoptosis.

B. Bloquear la función de p53.

C. Sobreproducir factores de crecimiento, mitógenos o factores de supervivencia.

D. Obtener una licencia para conducir taxímetros y cambiar de profesión.

Explique las probables consecuencias de cada opción.

PREGUNTA 18-29

El PDGF es codificado por un gen capaz de provocar cáncer si se expresa inadecuadamente. ¿Por qué el PDGF liberado por las plaquetas en las heridas no provoca cáncer?

PREGUNTA 18-30

Qué supone que sucede en células mutantes que:

A. no pueden degradar la ciclina

B. siempre expresan altos niveles de p21

C. no pueden fosforilar Rb

PREGUNTA 18-31

Las células hepáticas proliferan excesivamente tanto en pacientes con alcoholismo crónico como en pacientes con cáncer de hígado. ¿En qué se diferencian los mecanismos que inducen la proliferación celular en estas enfermedades?



CAPÍTULO **DIECINUEVE** 19

Sexo y genética

Las células individuales se reproducen por duplicación de su DNA y división en dos. Este proceso básico se observa en todas las especies vivas –en las células de los organismos pluricelulares, así como en las células de vida libre, como bacterias y levaduras– y permite que cada célula transmita su información genética a futuras generaciones.

Sin embargo, la reproducción en un organismo pluricelular –un pez o una mosca, una persona o una planta– es un asunto mucho más complicado. Los organismos pluricelulares atraviesan complejos ciclos de desarrollo, en los que todas las células, tejidos y órganos del individuo deben ser generados de nuevo a partir de una sola célula. Y esta célula inicial no es una célula común; tiene un origen muy peculiar: en la mayoría de las especies vegetales y animales, es producida por la fusión de dos células, derivadas de dos individuos distintos: una madre y un padre. Como resultado de esta fusión –un evento central de la *reproducción sexual*– se unen dos genomas que forman el genoma del nuevo individuo. Por lo tanto, el mecanismo que rige la herencia genética en los organismos que se reproducen sexualmente son diferentes y más complejos que los presentes en organismos que transmiten su información genética simplemente por división celular.

En este capítulo, se examina la biología celular de la reproducción sexual. Se comienza por analizar por qué los organismos tienen este tipo de reproducción y cómo se realiza. La generación de células especiales que transportan información genética de cada progenitor implica un proceso especializado de división celular, denominado *meiosis*, cuya mecánica se repasa. Después, se explica cómo dedujo Gregor Mendel, un monje austríaco preocupado por los guisantes, la base lógica de estos mecanismos genéticos. Por último, describiremos cómo pueden aprovechar los científicos la genética de la reproducción sexual para obtener conocimientos de la biología humana, sus orígenes y las bases moleculares de las enfermedades.

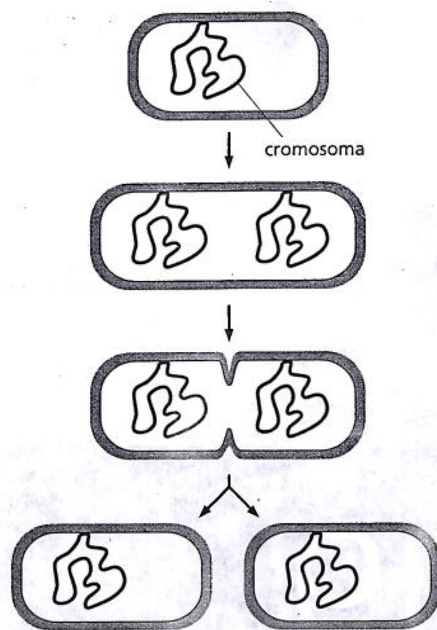


Figura 19-1. Las bacterias se reproducen por división celular simple. En condiciones de cultivo ideales, una bacteria tarda 20-25 minutos en dividirse en dos.

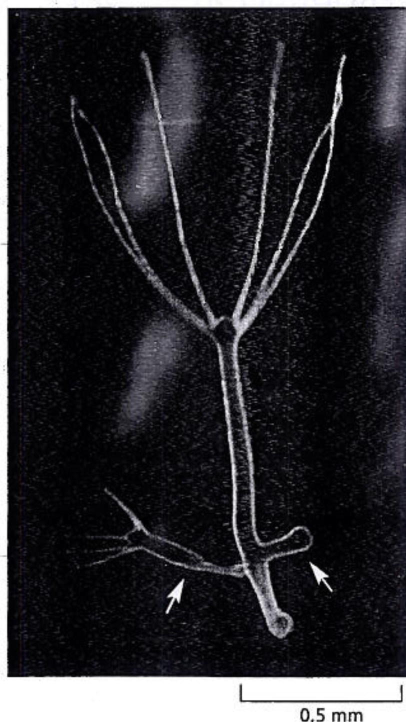


Figura 19-2. Una hidra se reproduce asexualmente. Este animal pluricelular bastante simple se reproduce formando brotes (flechas) que son idénticos al progenitor desde el punto de vista genético. Con el tiempo, estos brotes se desprenden de su progenitor y viven en forma independiente. (Cortesía de Amata Hornbruch).

LOS BENEFICIOS DE LA REPRODUCCIÓN SEXUAL

La mayoría de los seres vivos que tenemos a nuestro alrededor se reproducen sexualmente. Sin embargo, muchos organismos, en especial los que no son perceptibles a simple vista, se pueden reproducir en forma asexual. La mayoría de las veces, las bacterias y otros organismos unicelulares se reproducen por división celular simple (Fig. 19-1). Muchas plantas también se reproducen en forma asexual y generan ramificaciones pluricelulares que más tarde se separan del progenitor y forman nuevas plantas independientes. Aun en el reino animal, hay especies que se pueden reproducir por gemación (Fig. 19-2), y algunos gusanos se pueden dividir en dos mitades, cada una de las cuales regenera la mitad faltante. Y las hembras de algunas especies de insectos, lagartijas e, incluso pájaros, pueden producir óvulos que se desarrollan por *partenogénesis* –es decir, sin necesidad de machos, espermatozoides ni fecundación– en hijas sanas que, después, se pueden reproducir del mismo modo.

Esta **reproducción asexual** es simple y directa, pero la descendencia es idéntica al organismo progenitor desde el punto de vista genético. Por el contrario, la **reproducción sexual** implica la combinación de genomas de dos individuos que producen una descendencia genéticamente distinta entre sí y de sus dos progenitores. Este modo de reproducción parece tener grandes ventajas, ya que la adoptó la gran mayoría de las especies vegetales y animales.

La reproducción sexual implica la existencia de células diploides y haploides

Por lo general, los organismos que se reproducen sexualmente son *diploides*: cada célula contiene dos juegos de cromosomas –un juego de cromosomas *maternos* y un juego de cromosomas *paternos*– heredado uno de cada progenitor. Los dos progenitores, como miembros de la misma especie, tienen juegos de cromosomas que son similares excepto por los **cromosomas sexuales**, cromosomas especializados presentes en algunos organismos que distinguen a los machos de las hembras. Por lo tanto, cada célula diploide tiene dos copias de cada gen, con excepción de los genes de los cromosomas sexuales, de los que puede haber sólo una copia.

Lo que hace diferentes entre sí a los individuos de una misma especie es que los genes tienen variantes o **alelos**. Suele haber muchos alelos diferentes de cada gen en la reserva génica colectiva de una especie. Esto significa que las dos copias de cualquier gen dado de un individuo particular a menudo son algo diferentes entre sí y de los presentes en otros individuos. Gracias a la reproducción sexual, cada nuevo individuo representa una nueva combinación de alelos.

A diferencia de las otras células de un organismo diploide, las células especializadas que realizan el proceso central en la reproducción sexual –las **células germinales** o **gametos**– son *haploides*; es decir, cada una contiene sólo un juego de cromosomas. Por lo general, se producen dos tipos de gametos. En los animales, uno es grande y carece de movilidad, el óvulo; otro es pequeño y móvil y se denomina espermatozoide (Fig. 19-3). Estas células germinales haploides se generan cuando una célula diploide presenta meiosis. Durante la meiosis, los pares de cromosomas se separan en combinaciones nuevas, y se forman células con un solo juego de cromosomas. Después, los dos gametos haploides distintos se fusionan y forman una célula diploide (el óvulo fecundado o **cigoto**) que tiene una combinación nueva de cromosomas (Fig. 19-4). El cigoto así producido se desarrolla en un individuo nuevo con un juego diploide de cromosomas que es distinto del de los progenitores.

En casi todos los animales pluricelulares, incluidos los vertebrados, casi todo el ciclo de vida transcurre en el estado diploide. Las células haploides tienen una vida breve, no se dividen y están muy especializadas en su función de gametos; deben ser generadas de nuevo a partir de células precursoras diploides dentro del

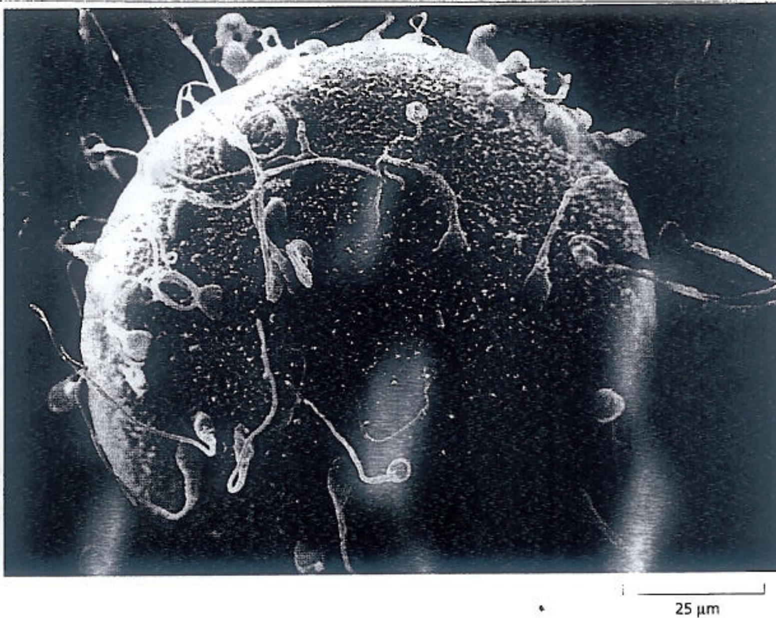


Figura 19-3. Pese a la enorme diferencia de tamaño, el espermatozoide y el oocito contribuyen por igual a las características genéticas del cigoto. Esta diferencia de tamaño (el oocito contiene una gran cantidad de citoplasma, mientras que el citoplasma del espermatozoide es casi inexistente) es compatible con nuestro conocimiento de que el citoplasma no es la base de la herencia. Si lo fuera, la contribución femenina a la constitución de la descendencia sería mucho mayor que la masculina. Aquí se muestra una microfotografía electrónica de barrido de un oocito con espermatozoides humanos unidos a su superficie. Si bien muchos espermatozoides están unidos al oocito, sólo uno lo fecundará. (Cortesía de David M. Phillips/Photo Researchers, Inc).

organismo. Este linaje de células precursoras, dedicado a la producción de células germinales, se denomina **línea germinal**. Las células que forman el resto del cuerpo del animal –las **células somáticas**– no dejan descendencia (Fig. 19-5). En efecto, sólo ayudan a las células de la línea germinal a sobrevivir y a propagarse.

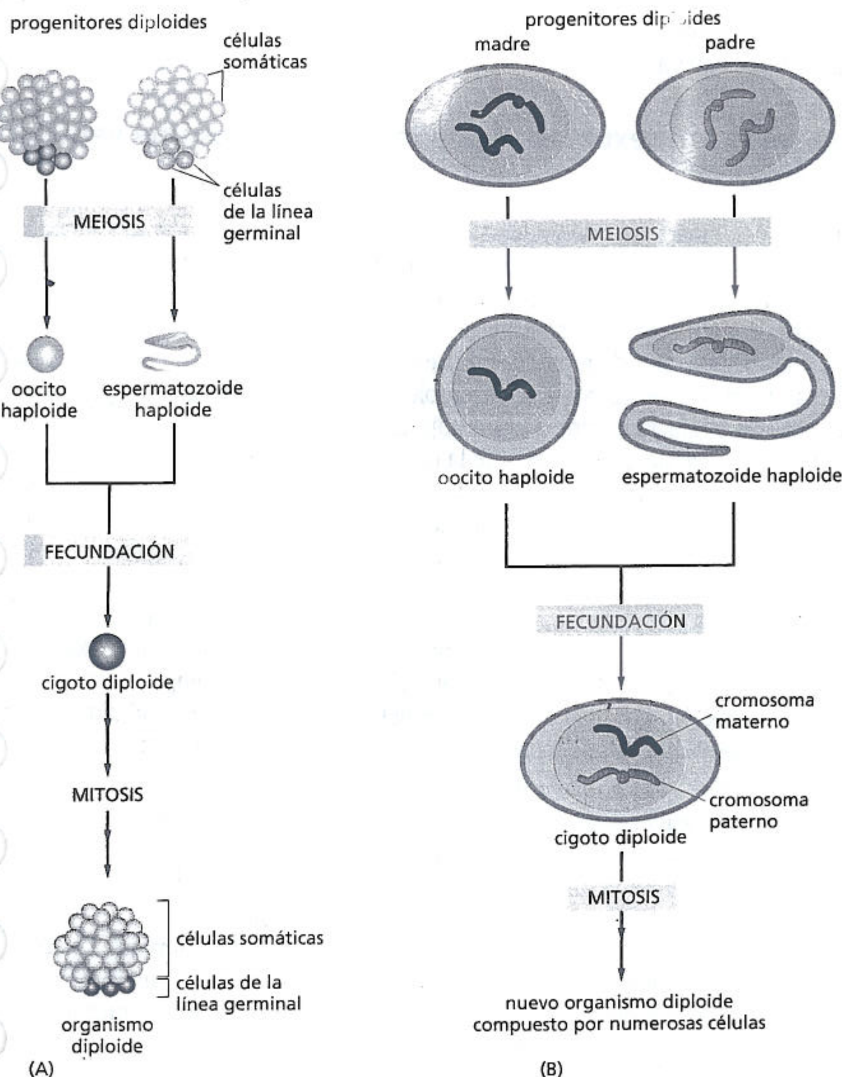


Figura 19-4. En la reproducción sexual participan células haploides y diploides. (A) Las células de los organismos eucariontes superiores proliferan en la fase diploide formando un organismo pluricelular; los gametos haploides –el óvulo y el espermatozoide– se forman por meiosis. Estos gametos se reúnen en el momento de la fecundación y generan un cigoto diploide, que se desarrollará en un organismo diploide genéticamente distinto a ambos progenitores. En el organismo pluricelular, las células de la línea germinal (*color oscuro*) son células precursoras que dan origen a los gametos; las células somáticas (*color pálido*) son las otras células del cuerpo. (B) Se esquematiza el mismo proceso con una vista de los cromosomas involucrados. Para simplificar, se muestra un solo cromosoma para cada gameto, y el espermatozoide está muy aumentado de tamaño (véanse los tamaños reales en la Fig. 19-3).

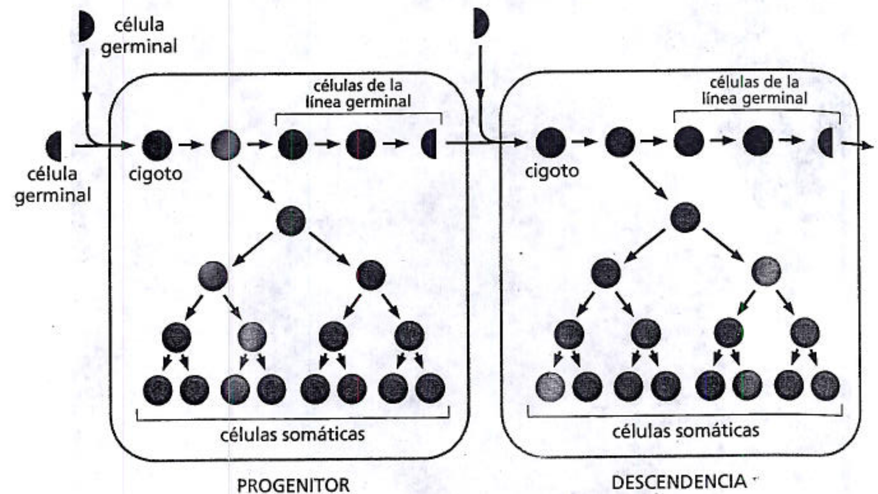


Figura 19-5. Las células de la línea germinal y las células somáticas cumplen funciones absolutamente diferentes. En los animales de reproducción sexual, las células de la línea germinal (*rojo*) están especificadas en etapas tempranas del desarrollo. Estas células transmiten la información genética a la siguiente generación. Las células somáticas (*azul*), que forman el cuerpo del organismo y, por lo tanto, son necesarias para la reproducción sexual, no dejan descendencia.

El ciclo de reproducción sexual implica, por lo tanto, una alternancia de células haploides, con un solo juego de cromosomas, y de generaciones de células diploides, con dos juegos de cromosomas. La combinación de genomas que caracteriza la reproducción sexual se logra por la fusión de dos células haploides que forman una célula diploide. De esta manera, a través de ciclos diploides, meióticos, haploides y de fusión celular, se rompen las antiguas combinaciones de genes y se forman otras nuevas.

La reproducción sexual otorga a los organismos una ventaja competitiva

Las nuevas combinaciones de alelos producidos en cada ronda de reproducción sexual se generan mediante un proceso aleatorio y la probabilidad de representar un cambio desfavorable es, por lo menos, igual que la de representar un cambio favorable. Entonces, ¿por qué la capacidad de probar nuevas combinaciones genéticas confiere a los organismos de reproducción sexual una ventaja evolutiva respecto de aquellos de reproducción asexual? Este problema aún desconcierta a los genetistas que estudian la evolución, pero una ventaja de la reproducción sexual parece ser que la recombinación de genes mediante la reproducción sexual puede ayudar a una especie a sobrevivir en un ambiente que varía en forma impredecible. Si dos progenitores tienen mucha descendencia con una amplia variedad de combinaciones genéticas, aumenta la probabilidad de que al menos uno de sus descendientes tenga la combinación de rasgos necesaria para sobrevivir. Esto podría explicar por qué incluso organismos unicelulares, como las levaduras, tienen de manera intermitente una forma simple de reproducción sexual. Por lo general, adoptan este comportamiento como una alternativa a la división celular común en tiempos difíciles con amenaza de inanición. Las levaduras con un defecto genético que les impide reproducirse sexualmente muestran menor capacidad de evolucionar y adaptarse cuando se las coloca en condiciones rigurosas.

La reproducción sexual también puede ser ventajosa por otra razón. En cualquier población, aparecen continuamente nuevas mutaciones, que dan origen a nuevos alelos, y muchas de ellas serán nocivas. La reproducción sexual puede acelerar la eliminación de estos alelos deletéreos y ayudar a impedir que se acumulen en la población. Al aparearse sólo con los machos más aptos, las hembras seleccionan buenas combinaciones de alelos y permiten que las malas combinaciones se pierdan de la población de un modo más eficiente. Según esta teoría, que ha sido avalada por cálculos cuidadosos de costo y beneficio, se favorece la reproducción sexual porque los machos pueden actuar como un dispositivo de filtro genético:

los machos que tienen éxito en aparearse permiten que se transmitan los mejores, y sólo los mejores, grupos de genes, mientras que los que no se aparean sirven como "bote de basura" genética, una manera de desechar malos grupos de alelos de la población. Por supuesto, la evolución ha dado muchos giros y vueltas desde que surgió por primera vez la reproducción sexual, y especialmente en organismos sociales, hay que admitir que los machos a veces pueden ser útiles de otras maneras.

Sean cuales sean sus ventajas, la evolución ha favorecido con claridad la reproducción sexual. En la sección siguiente, se consideran sus características centrales, comenzando por la meiosis, el proceso de formación de las células sexuales.

MEIOSIS Y FECUNDACIÓN

El conocimiento moderno del ciclo de acontecimientos fundamentales involucrados en la reproducción sexual provino de descubrimientos comunicados en 1888, cuando Theodor Boveri observó que el óvulo fecundado de un parásito nematodo contenía cuatro cromosomas, mientras que los gametos del nematodo (espermatozoide y óvulo) tenían sólo dos. Esta observación reveló que los gametos son **haploides**: tienen un solo juego de cromosomas. Todas las demás células del cuerpo, incluidas las que dan origen a los gametos, son **diploides**: tienen dos juegos de cromosomas, uno derivado de la madre y otro del padre. Por lo tanto, los espermatozoides y los óvulos se deben formar por un tipo especial de división celular en la que el número de cromosomas se reduce con precisión a la mitad. Se acuñó el término **meiosis** para describir esta forma de división celular; proviene de un término griego que significa "disminución" o "reducción".

A partir de los experimentos de Boveri en nematodos y otras especies, se esclareció que el comportamiento de los cromosomas que, en esa época, eran sólo cuerpos microscópicos teñibles de función desconocida, coincidían con el patrón de herencia, en el que dos progenitores hacen contribuciones iguales que determinan el carácter de la progenie, pese a la enorme diferencia de tamaño entre el óvulo y el espermatozoide (véase Fig. 19-3). Éste fue el indicio que llegó a reconocer, por primera vez, que los cromosomas contienen el material hereditario. Por lo tanto, el estudio de la reproducción sexual y la meiosis tiene un lugar central en la historia de la biología celular.

En esta sección, se describen los mecanismos que subyacen a la biología celular desde un punto de vista actual, y se estudia la compleja danza de cromosomas que se produce cuando una célula inicia la meiosis. Se comienza con un repaso de la distribución de los cromosomas en los gametos durante la meiosis. Luego, se analiza en detalle el modo en que los cromosomas se aparean, se recombinan y se segregan durante el proceso, lo que reúne los genes maternos y paternos en nuevas combinaciones. Asimismo, se analiza lo que sucede cuando hay errores en la meiosis. Por último, se considera en forma sucinta el proceso de fecundación por el cual los gametos se reúnen y forman un individuo nuevo genéticamente distinto.

Las células germinales haploides se producen por meiosis a partir de células diploides

Cuando las células diploides se dividen por mitosis de la manera habitual, comienzan por duplicar sus dos juegos de cromosomas en forma precisa, de manera de poder transmitir a cada célula hija juegos de cromosomas idénticos: un juego materno y un juego paterno completos (véase capítulo 18). La meiosis es diferente porque sólo un juego de cromosomas –que consiste en parte del juego de cromosomas paternos y parte del juego de cromosomas maternos– es finalmente repartido a cada gameto a partir de la célula diploide inicial. Sin embargo, por ilógico que pueda parecer dado que el resultado final es una reducción del número de cromosomas, la meiosis comienza con una sola ronda de replicación del DNA

que duplica todos los cromosomas. La reducción final del número de cromosomas se produce porque esta ronda única de replicación es seguida de dos divisiones celulares sucesivas. Cabría imaginar que la meiosis se podría producir mediante una modificación simple de una división celular mitótica normal, en la que se omite la replicación del DNA (fase S). En principio, una sola ronda de división celular produciría directamente dos células haploides. Pero, por razones que se desconocen, ésta no es la manera en la que se realiza la meiosis.

En muchas especies, la meiosis es un procedimiento relativamente largo, que dura mucho más que la mitosis: en un hombre, por ejemplo, el proceso requiere 24 días, mientras que en la mujer, puede durar décadas. La meiosis comienza en células diploides especializadas de la línea germinal en los ovarios o en los testículos. Cada una de estas células contiene dos copias de cada cromosoma, uno heredado del padre (el *homólogo paterno*) y otro heredado de la madre (el *homólogo materno*). En el primer paso de la meiosis, los cromosomas de esta célula diploide se duplican: como en cualquier célula que se prepara para la división, los cromosomas duplicados continúan unidos entre sí, como siameses. La siguiente fase del proceso es exclusiva de la meiosis. Cada cromosoma paterno duplicado halla a su homólogo materno duplicado y se aparean. Este apareamiento especializado asegura la segregación correcta de los homólogos durante las divisiones celulares siguientes, de manera que cada uno de los gametos resultantes recibe un juego haploide completo de cromosomas.

Luego de dos divisiones celulares sucesivas, llamadas meiosis I y meiosis II, se distribuye un juego completo de cromosomas a cada una de las cuatro células haploides producidas. Como la asignación de los homólogos a cada célula es aleatoria, los cromosomas maternos y paternos originales se reordenan en diferentes combinaciones en los gametos que finalmente se formarán a partir de estas células haploides. Durante la fecundación, se unen dos gametos, lo que genera un cigoto diploide que es diferente, desde el punto de vista genético, de cada uno de sus progenitores (véase Fig. 19-4B). Después, el cigoto se desarrolla en un organismo pluricelular mediante rondas sucesivas de división y especialización celular.

Así, la meiosis produce cuatro células genéticamente distintas que contienen justo la mitad de los cromosomas de la célula progenitora original. En cambio, la mitosis produce dos células hijas genéticamente idénticas. A continuación, se analizan en detalle los procesos moleculares del ciclo meiótico, comenzando por el apareamiento de los cromosomas maternos y paternos, un proceso central en esta forma especializada de división celular.

La meiosis implica un proceso especial de apareamiento de cromosomas

Antes de que la célula se divida –por meiosis o por mitosis– duplica todos sus cromosomas. Las copias gemelas de cada cromosoma duplicado por completo, denominadas **cromátidas hermanas**, permanecen primero estrechamente unidas en toda su longitud. Sin embargo, la manera en que se comportan estos cromosomas replicados difiere en la meiosis y la mitosis. En la mitosis, como se comentó en el capítulo 18, los cromosomas replicados se alinean en un orden aleatorio en la placa metafásica; a medida que prosigue la mitosis, las dos cromátidas hermanas antes unidas se separan y se convierten en cromosomas individuales; las dos células hijas producidas por citocinesis heredan una copia de cada cromosoma paterno y una copia de cada cromosoma materno. Por lo tanto, ambos conjuntos de información genética se transmiten intactos a ambas células hijas que, por ende, son diploides e idénticas desde el punto de vista genético.

Los eventos de la primera división meiótica reflejan la secuencia de etapas de la mitosis: en la profase, los cromosomas replicados se condensan; en la metafase, se alinean en el ecuador del huso meiótico; y en la anafase, se segregan hacia los polos. Véase una revisión de estas etapas en la lámina 18-1 (pp. 626-627). Sin embargo, la necesidad de reducir a la mitad el número de cromosomas durante la

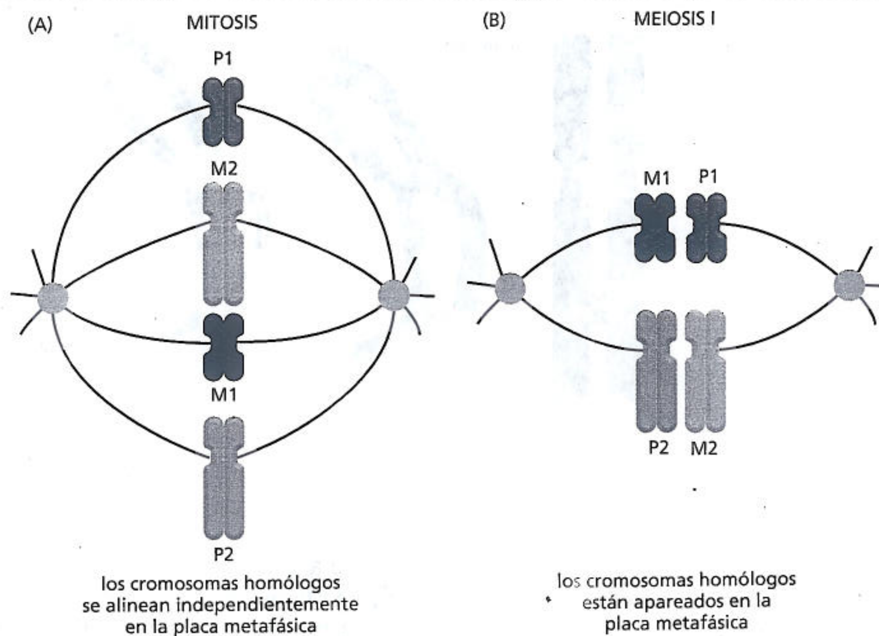


Figura 19-6. Durante la meiosis, los cromosomas homólogos se aparean antes de alinearse en el huso. En la mitosis (A), los cromosomas individuales materno (M) y paterno (P) se alinean independientemente en la placa metafásica; cada uno de ellos está formado por un par de cromátidas hermanas, que después se separan. En cambio, en la primera división meiótica (B), los cromosomas homólogos materno y paterno se han apareado antes de alinearse en la placa metafásica; durante la primera división meiótica, cada célula hija recibe, al azar, un homólogo materno o un homólogo paterno. Tanto en la mitosis como en la meiosis, los cromosomas se han replicado antes de alinearse. El huso se muestra en *verde*.

meiosis es una exigencia adicional para la maquinaria de división celular y determina la primera diferencia importante entre la meiosis y la mitosis. En la primera división meiótica, los cromosomas paternos y maternos replicados (incluidos los dos cromosomas sexuales replicados) se aparean uno al lado del otro antes de alinearse en el huso (**Fig. 19-6**). Este apareamiento físico de juegos compatibles de cromosomas –denominados **cromosomas homólogos** u **homólogos**– es crucial porque permite segregar cromosomas paternos y maternos a diferentes células hijas durante esta primera división. Para cada cromosoma, la asignación del homólogo materno o paterno a una célula hija o la otra es aleatoria. De esta manera, los cromosomas originales materno y paterno, con sus distintos grupos de alelos, se reordenan en nuevas combinaciones en cada célula hija de la primera división meiótica.

Aún no se sabe con certeza cómo los homólogos (y los dos cromosomas sexuales) se reconocen entre sí. En muchos organismos, la asociación inicial –el proceso de **apareamiento**– parece ser mediado por la interacción entre secuencias de DNA maternas y paternas complementarias en numerosos sitios ampliamente dispersos por los cromosomas. La estructura que se forma cuando se aparean los cromosomas duplicados se llama **bivalente** y contiene cuatro cromátidas (**Fig. 19-7**). El bivalente se forma y se mantiene durante la prolongada profase meiótica, un estadio que puede durar años en algunos organismos.

Puede haber entrecruzamiento entre los cromosomas maternos y paternos

El cuadro de división meiótica recién reseñado está muy simplificado, porque deja fuera una característica crucial. En casi todos los organismos de reproducción sexual, el apareamiento de los cromosomas maternos y paternos se acompaña de **recombinación**, un proceso en el que hay intercambio de DNA entre dos secuencias nucleotídicas idénticas o muy similares (véase Fig. 6-31). En una línea germinal diploide, la recombinación se produce durante la profase prolongada de la primera división meiótica. Por lo general, esta recombinación determina intercambio físico de segmentos homólogos de los cromosomas maternos y paternos, un fenómeno conocido como **entrecruzamiento** (véase Fig. 6-30).

El entrecruzamiento de la meiosis es un proceso complejo catalizado por una intrincada maquinaria proteica y depende de la formación de un *complejo sinap-*

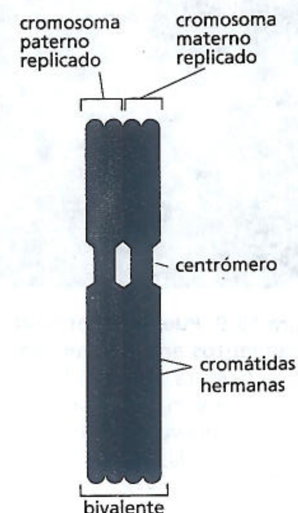


Figura 19-7. Los cromosomas replicados se juntan durante la meiosis y forman un bivalente. Esta estructura, que contiene cuatro cromátidas hermanas, se forma durante la profase meiótica.

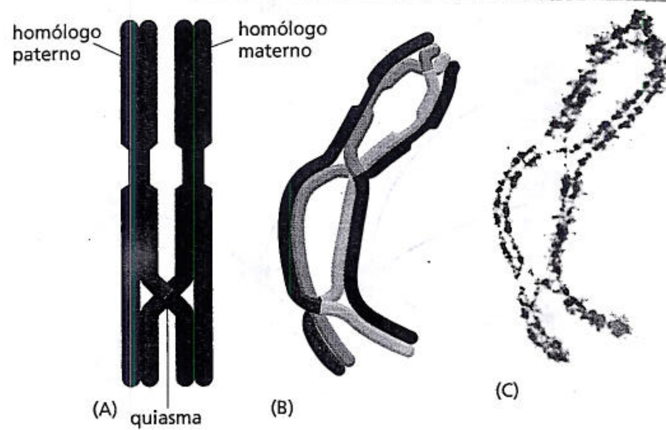


Figura 19-8. Los fenómenos de entrecruzamiento crean quiasmas entre cromátidas no hermanas del bivalente. (A) En este juego de homólogos apareados, se ha producido un solo fenómeno de entrecruzamiento durante la profase, lo que crea un solo quiasma. (B) Un poco más tarde en la meiosis, los homólogos materno y paterno comenzarán a separarse y sólo permanecerán unidos en los sitios donde ha habido recombinación. (C) Fotografía de un bivalente de saltamontes en este estadio, con tres quiasmas. (C, cortesía de Bernard John).

tonémico. Cuando los homólogos duplicados se aparean, este complejo los mantiene juntos y los alinea, de modo que se facilita la recombinación genética entre cromátidas no hermanas. Asimismo, esta estructura permite espaciar los fenómenos de entrecruzamiento a lo largo de cada cromosoma.

Cada una de las dos cromátidas de un cromosoma duplicado puede entrecruzarse con cada una de los dos cromátidas del otro cromosoma del bivalente. Cuando finaliza la profase, el complejo sinaptonémico se ha desensamblado, lo que permite que los homólogos se separen en la mayor parte de su longitud. Pero cada par de homólogos duplicados ahora está unido por no menos de un **quiasma**, la conexión que corresponde a un entrecruzamiento entre dos cromátidas no hermanas (**Fig. 19-8**). (La estructura se denomina como la letra griega Ji, χ, que tiene forma de cruz). Muchos bivalentes contienen más de un quiasma, lo que indica que puede haber múltiples entrecruzamientos (véanse Figs. 19-8B y C, y **Fig 19-9**). En promedio, se producen de dos a tres fenómenos de entrecruzamiento entre cada par de cromosomas humanos durante la meiosis I.

Los entrecruzamientos durante la meiosis son una fuente importante de variación genética en las especies que se reproducen sexualmente. Al combinar la constitución genética de cada cromosoma en los gametos, el entrecruzamiento ayuda a producir individuos con combinaciones nuevas de genes. El entrecruzamiento no sólo genera combinaciones nuevas de genes maternos y paternos en cromosomas individuales, sino que también tiene un segundo papel importante en la meiosis. Al mantener unidos los cromosomas homólogos durante la profase I, el entrecruzamiento asegura que los homólogos maternos y paternos se segreguen correctamente entre sí en la primera división meiótica, como se analiza a continuación.



Figura 19-9. Puede haber múltiples entrecruzamientos entre cromosomas homólogos. Se muestra una microfotografía óptica de los cromosomas de un oocito humano (precursor del óvulo) en el estadio en que las cuatro cromátidas –maternas y paternas– todavía están estrechamente asociadas: cada hebra larga aislada (teñida de rojo) es un bivalente que contiene cuatro hélices dobles de DNA. Los sitios de recombinación están marcados por la presencia de una proteína (teñida de verde) que es un componente clave de la maquinaria de recombinación. (De C. Tease et al., *Am. J. Hum. Genet.* 70:1469-1479; 2002. Con autorización de Elsevier).

El apareamiento y la recombinación de los cromosomas aseguran la correcta segregación de los homólogos

En la mayoría de los organismos, la recombinación durante la meiosis es necesaria para la segregación correcta de los dos homólogos duplicados en núcleos hijos distintos. Los quiasmas creados durante el entrecruzamiento desempeñan el papel crucial de mantener unidos a los homólogos materno y paterno hasta que el huso los separa en la anafase I. Antes de la anafase I, los dos polos del huso traccionan en direcciones opuestas a los homólogos duplicados, y el quiasma resiste esta tracción (**Fig. 18-10A**). Al hacerlo, los quiasmas ayudan a posicionar y estabilizar a los bivalentes en la placa metafásica. Además de los quiasmas, que mantienen juntos a los homólogos maternos y paternos, las proteínas cohesinas mantienen adheridos los brazos de las cromátidas hermanas en toda su longitud (véanse Figs. 19-8 y 18-15). Las cromátidas hermanas se despegan cuando la cohesina de los brazos es degradada al comienzo de la anafase I, lo que permite que se separen los homólogos recién recombinados (**Fig. 19-10B**).

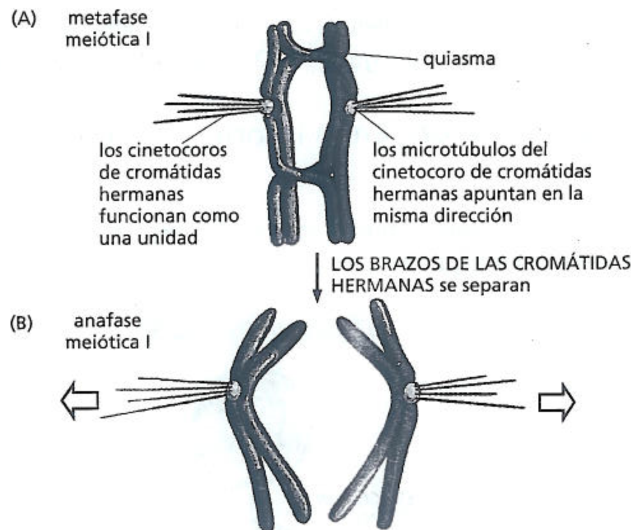


Figura 19-10. Los quiasmas aseguran la correcta segregación de los cromosomas en la meiosis. (A) En la metafase I, los quiasmas creados por entrecruzamiento mantienen unidos los homólogos materno y paterno. En esta etapa, las cohesinas (no mostradas) mantienen adheridas a las cromátidas hermanas en toda su longitud. Los cinetocoros de las cromátidas hermanas funcionan como una sola unidad en la meiosis I, y los microtúbulos que se unen a ellos apuntan hacia una sola dirección. (B) En la anafase I, las cohesinas que mantienen unidos los brazos de las cromátidas hermanas son degradadas, pero las cohesinas del centrómero persisten y siguen manteniendo unidas a las cromátidas hermanas en ese lugar. Esta disposición permite que las cromátidas hermanas permanezcan unidas cuando los homólogos recién recombinados se separan y migran hacia polos opuestos del huso. En contraste, durante la anafase de la mitosis, tanto los brazos como los centrómeros se separan al mismo tiempo.

La segunda división meiótica da lugar a células hijas haploides

La primera división meiótica no produce células con una cantidad haploide de DNA. Para lograr este objetivo, cada célula ingresa en una segunda ronda de división, meiosis II, que transcurre sin replicación de DNA y sin un período de interfase significativo. Se forma el huso, los cromosomas se alinean en su ecuador, y las cromátidas hermanas ahora se separan y forman células hijas con un contenido haploide de DNA. En la segunda división meiótica, al igual que en la división mitótica habitual, los cinetocoros de cada par de cromátidas hermanas se unen a microtúbulos del cinetocoro que apuntan en direcciones opuestas. Esta configuración permite arrastrar a cada cromosoma a diferentes células hijas en la anafase II (**Fig. 19-11**). Cuando se degradan súbitamente las cohesinas específicas de la meiosis que mantienen juntas las cromátidas hermanas en el centrómero, las cromátidas se separan.

En resumen, la meiosis consiste en una sola ronda de replicación del DNA seguida de dos divisiones celulares, de manera que cada célula diploide que ingresa en meiosis produce cuatro células haploides no idénticas (**Película 19.1**). En cambio,

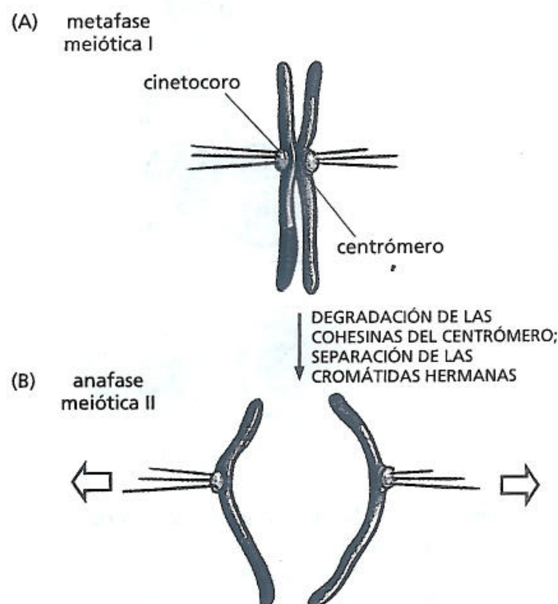


Figura 19-11. En la meiosis II, al igual que en la mitosis, los cinetocoros de cada cromátida hermana funcionan independientemente, lo que permite que las dos cromátidas migren hacia polos opuestos. (A) En la metafase II, los cinetocoros de las cromátidas hermanas apuntan en direcciones opuestas. (B) Las cohesinas que mantienen unidas a las cromátidas hermanas en el centrómero ahora son degradadas, lo que permite que los microtúbulos del cinetocoro arrastren a cada cromátida hacia polos opuestos.

el ciclo celular mitótico habitual comienza con una célula diploide que da origen a dos células diploides idénticas. La **figura 19-12** compara los dos procesos.

Las células haploides contienen información genética recombinada

Con excepción de los gemelos idénticos, que se desarrollan a partir de un solo cigoto, los hermanos no son iguales desde el punto de vista genético. Esto se debe

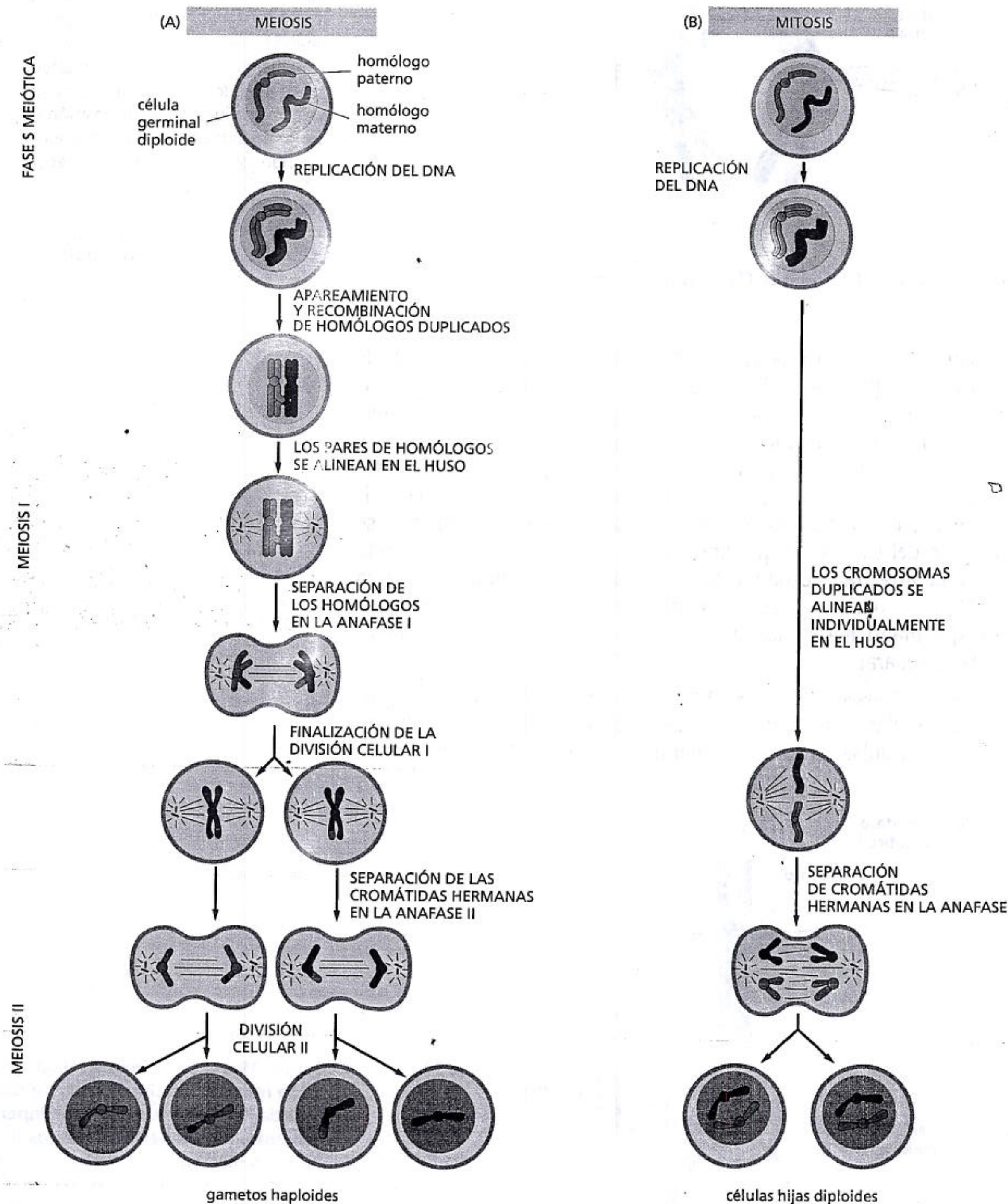


Figura 19-12. La meiosis genera cuatro células haploides no idénticas, mientras que la mitosis produce dos células diploides idénticas. Al igual que en la figura 19-4B, se muestra sólo un par de cromosomas homólogos. En la meiosis, se requieren dos divisiones celulares después de la replicación del DNA para producir los gametos haploides. Por lo tanto, cada célula diploide que ingresa en meiosis produce cuatro células haploides, mientras que cada célula diploide que se divide por mitosis da origen a dos células diploides. Aunque por lo general la mitosis y la división II de la meiosis se cumplen en el término de horas, la meiosis I puede durar días, meses o incluso años, debido a la profase muy prolongada.

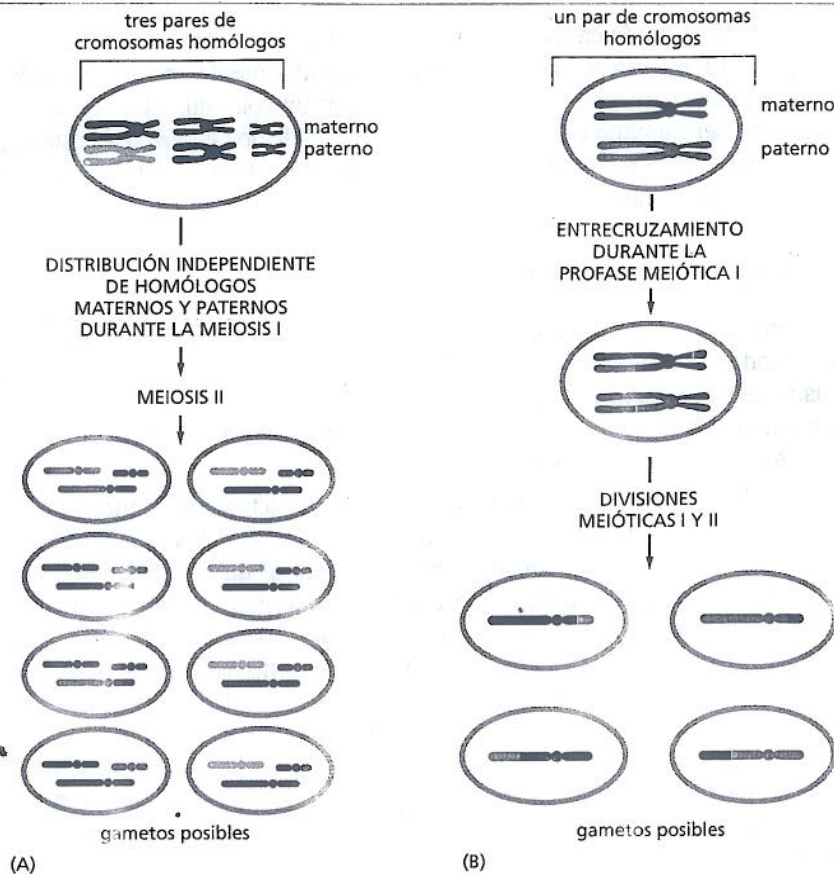


Figura 19-13. Dos tipos de redistribuciones generan nuevas combinaciones de cromosomas durante la meiosis. (A) En un organismo con *n* cromosomas, la distribución independiente de los homólogos materno y paterno durante la meiosis produce 2^n gametos haploides distintos. Aquí, $n = 3$, y hay 2^3, es decir 8, gametos diferentes posibles. Para simplificar, no se muestra el entrecruzamiento entre los cromosomas. (B) El entrecruzamiento durante la profase I de la meiosis intercambia segmentos de cromosomas homólogos, lo que redistribuye los genes en cromosomas individuales. Para simplificar, se muestra solo un par de cromosomas homólogos. Tanto la distribución independiente como el entrecruzamiento se producen en cada meiosis.

PREGUNTA 19-1

¿Por qué no sería deseable que un organismo realizara los primeros pasos de la meiosis (hasta la primera división inclusive) en la división mitótica común de las células somáticas?

a que, aun antes de la fecundación, la meiosis ha producido dos tipos de reordenamientos genéticos aleatorios.

En primer lugar, como se ha visto, durante la meiosis los cromosomas maternos y paternos se mezclan y se distribuyen entre los gametos. Si bien los cromosomas se distribuyen de manera cuidadosa, de forma que cada gameto reciba una y sólo una copia de cada cromosoma, la elección entre las dos copias se realiza al azar. Así, cada gameto contiene versiones maternas de algunos cromosomas y versiones paternas de otros (**Fig. 19-13A**). Este reordenamiento depende de la manera en que cada bivalente se ubica al alinearse en el huso durante la metafase I. Que el homólogo materno o paterno sea capturado por los husos de uno u otro de los polos depende de la manera en que el bivalente está orientado cuando los microtúbulos se conectan con su cinetocoro (véase Fig. 19-10). Como la orientación del bivalente en el momento de su captura es totalmente aleatoria, la distribución de los cromosomas maternos y paternos también lo es.

Gracias a este tipo de redistribución, un individuo podría, en principio, producir 2^n gametos diferentes, donde *n* es el número haploide de cromosomas. Por ejemplo, cada ser humano puede producir, en teoría, $2^{23} = 8{,}4 \times 10^6$ gametos diferentes sólo a partir de la distribución aleatoria de los homólogos maternos y paternos durante la meiosis. Sin embargo, el número real de gametos diferentes que puede producir una persona es mucho mayor de 2^{23}. Esto se debe a que el entrecruzamiento que tiene lugar durante la meiosis suministra una segunda fuente de reordenamiento genético aleatorio. En cada par de cromosomas humanos, se produce un promedio de dos o tres entrecruzamientos por meiosis. Este proceso coloca en el mismo cromosoma genes maternos y paternos que, al principio, están en cromosomas distintos, como se ilustra en la figura 19-13B. Como el entrecruzamiento se produce en sitios más o menos aleatorios a lo largo del cromosoma, cada meiosis producirá cuatro juegos de cromosomas enteramente nuevos.

La redistribución de cromosomas durante la meiosis, junto con la recombinación de genes en el entrecruzamiento, proporciona una fuente casi ilimitada de variación genética para los gametos producidos por un solo individuo. Si se considera que cada ser humano está formado por la unión de dos gametos de este tipo, uno del padre y otro de la madre, no sorprende para nada la riqueza de variación humana que vemos a nuestro alrededor.

PREGUNTA 19-2

Dejando a un lado los efectos de los entrecruzamientos cromosómicos, cada ser humano puede producir, en principio, $2^{23} = 8,4 \times 10^6$ gametos genéticamente diferentes. ¿Cuántas de estas posibilidades pueden realizarse durante el promedio de vida de (A) una mujer y de (B) un hombre?

La meiosis no es perfecta

La distribución de cromosomas durante la meiosis es un rasgo notable de la contabilidad celular: en el ser humano, cada meiosis exige que la célula inicial siga el rastro de 92 cromosomas (23 pares, cada uno duplicado) y que entregue un juego completo a cada gameto. No es extraño que existan errores en la distribución de los cromosomas durante este proceso complejo.

En ocasiones, los homólogos no se separan correctamente, fenómeno llamado *falta de disyunción*. En consecuencia, algunas de las células haploides producidas carecen de un cromosoma determinado, mientras que otras tienen más de una copia de éste. En la fecundación, estos gametos forman embriones anormales, la mayoría de los cuales mueren. Sin embargo, algunos sobreviven. Por ejemplo el *síndrome de Down*, una enfermedad humana caracterizada por retraso mental grave y anormalidades físicas características, es causado por una copia extra del cromosoma 21. Este error se debe a la falta de disyunción de un par del cromosoma 21 durante la meiosis, que da origen a un gameto que contiene dos copias del cromosoma 21 en lugar de una (Fig. 19-14). Cuando este gameto anormal se fusiona con un gameto normal en la fecundación, el embrión contiene tres copias del cromosoma 21 en lugar de dos. Este desequilibrio cromosómico produce una dosis extra de las proteínas codificadas por el cromosoma 21, lo que interfiere con el desarrollo normal del embrión.

La frecuencia de una segregación errónea en los gametos humanos es notoriamente alta, en particular en la mujer: se observa falta de disyunción en alrededor del 10% de las meiosis en los oocitos humanos, lo que da origen a óvulos que contienen un número anormal de cromosomas (una condición denominada *aneu-*

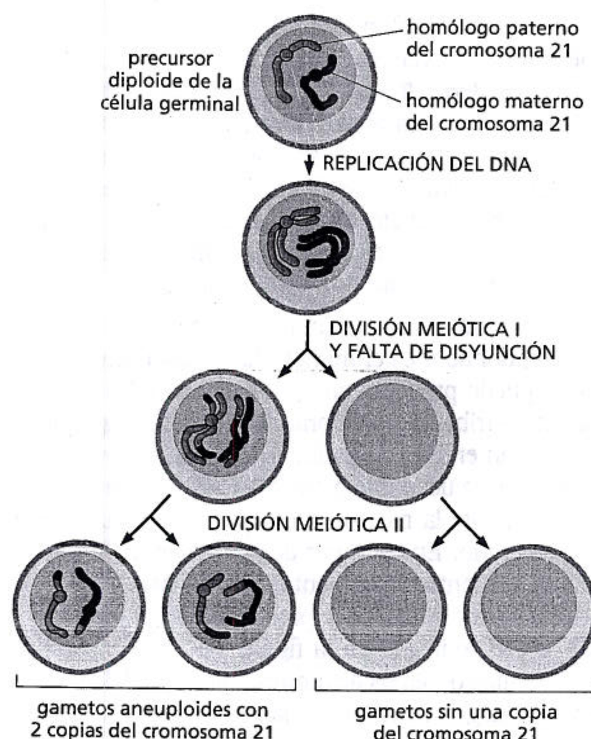


Figura 19-14. Los errores en la segregación de los cromosomas durante la meiosis pueden generar gametos con un número incorrecto de cromosomas. En este ejemplo, las copias materna y paterna duplicadas del cromosoma 21 no se separan normalmente durante la primera división meiótica. En consecuencia, dos de los gametos no reciben ninguna copia del cromosoma, mientras que los otros dos gametos reciben dos copias en lugar de una sola, que es lo correcto. Los gametos que reciben un número incorrecto de cromosomas se denominan gametos *aneuploides*. Si uno de ellos participa en la fecundación, el cigoto resultante también tendrá un número anormal de cromosomas. Si un gameto con dos copias del cromosoma 21 se fusiona con un gameto normal, el resultado será un niño con síndrome de Down.

ploidía). La aneuploidía es menos frecuente en los espermatozoides humanos, quizá porque éstos están sometidos a un control de calidad más estricto que el óvulo. Si hay un error en la meiosis de las células masculinas, se activa un mecanismo de punto de control del ciclo celular, que detiene la meiosis e induce la muerte por apoptosis de la célula. Independientemente de si el error de segregación se produce en el espermatozoide o en el óvulo, se considera que la falta de disyunción es una de las razones de la alta tasa de abortos espontáneos en las primeras etapas de la gestación en seres humanos.

La fecundación reconstituye un genoma diploide completo

Ya se ha visto cómo se reparten los cromosomas durante la meiosis; ahora, se analizará brevemente de qué manera se unen durante el proceso de la **fecundación** y forman un nuevo cigoto con una dotación completa de cromosomas.

De los 300 millones de espermatozoides eyaculados durante el coito, sólo alrededor de 200 alcanza el sitio de fecundación en el oviducto. Hay pruebas de que las células que rodean al oocito liberan señales químicas que atraen al espermatozoide hacia él, pero se desconoce el carácter de las moléculas de atracción química. Una vez que encuentra un oocito, el espermatozoide debe migrar a través de una capa de células protectoras, unirse a la cubierta del oocito, denominada *zona pelúcida*, y atravesarla. Por último, las membranas plasmáticas de ambos gametos deben unirse y fusionarse (Fig. 19-15). Aunque la fecundación normal tiene lugar por este proceso de fusión, también se puede lograr en forma artificial inyectando el espermatozoide directamente dentro del citoplasma del oocito; esto se hace en servicios de reproducción asistida cuando no se puede producir la fusión natural del oocito y el espermatozoide.

Aunque muchos espermatozoides se pueden unir a un óoocito, sólo uno se fusiona normalmente con la membrana plasmática e introduce su DNA en el citoplasma. El control de este paso tiene especial importancia, porque asegura que un cigoto contenga sólo dos juegos de cromosomas. Varios mecanismos impiden que múltiples espermatozoides ingresen en un oocito. Uno de ellos es la liberación de una ola de iones de Ca^{2+} al citoplasma del oocito desencadenada por el primer espermatozoide exitoso. A su vez, el Ca^{2+} desencadena la secreción de enzimas que causan un 'endurecimiento' de la zona pelúcida. Esto evita que los demás espermatozoides atraviesen esta zona, lo que asegura que haya un solo ganador de la carrera para fecundar el oocito. Véase la ola de calcio inducida por la fecundación en las **Películas 16.4 y 19.2**.

Una vez fecundado, el óvulo se denomina **cigoto**. Sin embargo, la fecundación no se completa hasta que los dos núcleos haploides (llamados *pronúcleos*) se unen y combinan sus cromosomas en un solo núcleo diploide. La fecundación marca el comienzo de uno de los fenómenos más importantes de toda la biología, el proceso de embriogénesis, en el cual el cigoto se divide y genera grandes cantidades de células diploides que se desarrollan en un nuevo individuo.

MENDEL Y LAS LEYES DE LA HERENCIA

En los organismos de reproducción asexual, el material genético del progenitor se transmite fielmente a su progenie. Así, la descendencia es idéntica, desde el punto de vista genético, a un solo progenitor. Antes de que Mendel comenzara a traba-

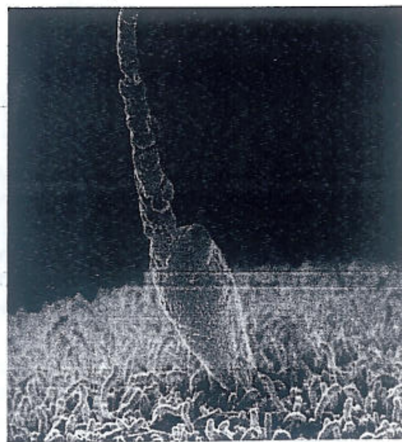


Figura 19-15. Un espermatozoide se une a la membrana plasmática del oocito. Se muestra aquí una microfotografía electrónica de barrido de un espermatozoide humano en contacto con el oocito de un hámster. Se ha retirado la zona pelúcida del oocito, lo que expone la membrana plasmática, cubierta por microvellosidades digitiformes. En las clínicas de reproducción asistida, a veces se utilizan estos oocitos de hámster sin la cubierta para determinar si el espermatozoide de un hombre es capaz de penetrar en el gameto femenino. Los cigotos resultantes de esta prueba no se desarrollan. (Cortesía de David M. Phillips).



Figura 19-16. Una teoría errónea de la herencia sugería que los rasgos genéticos eran transmitidos sólo por el padre. En aval de esta teoría particular de la herencia uniparental, algunos de los primeros microscopistas imaginaron que podían detectar un pequeño ser humano, perfectamente formado, acuclillado en la cabeza de cada espermatozoide.

jar con guisantes, algunos biólogos sospechaban que la herencia podría actuar de esa manera en los seres humanos (Fig. 19-16).

Sin embargo, aunque los hijos se parecen a sus padres, no son copias idénticas de la madre ni del padre. En los organismos que se reproducen sexualmente, la descendencia tiende a mostrar una mezcla de rasgos derivados de ambos progenitores. Este hecho ayudó a los primeros genetistas (científicos que estudian la herencia) en sus esfuerzos por descifrar las leyes de la herencia. Para comprender los principios de base de la herencia, es preciso poder rastrear determinadas características a medida que se transmiten (o no se transmiten) de padres a hijos. Y esas características deben mostrar cierta variación. Si todos los padres de ojos azules tuvieran sólo hijos de ojos azules, generación tras generación, sería imposible ir más allá de afirmar que el color de ojos azul es hereditario sobre la base del estudio de esas familias.

Gracias a los mecanismos de la meiosis recién descritos, el sexo rompe los conjuntos existentes de información genética, reúne alelos en nuevas combinaciones y produce individuos que, en consecuencia, tienen caracteres diferentes. Por lo tanto, no es sorprendente que el estudio de la herencia mediante la reproducción sexual aportara los primeros conocimientos cruciales acerca de los mecanismos de la herencia.

Los seres humanos, al igual que otras especies, presentan rasgos simples que pueden ser seguidos de una generación a la siguiente: p. ej., si los lóbulos de las orejas de un individuo están unidos o son péndulos, o si una persona puede detectar ciertos olores o sabores (Fig. 19-17). Pero el tamaño de las familias humanas es pequeño, y el desarrollo humano es tan lento que demanda 40 años o más contar con un par de generaciones de progenie para analizar. Por lo tanto, los seres humanos no son el mejor material experimental para los genetistas.

Las leyes de la herencia fueron descifradas, en cambio, mediante estudios de especies que son fáciles de criar y que producen gran cantidad de descendientes. Gregor Mendel, el padre de la genética, optó por estudiar guisantes, pero se pueden realizar experimentos similares en moscas de la fruta, gusanos, perros, gatos o cualquier otra planta o animal que tenga características de interés. En la actualidad, se sabe que las mismas leyes básicas de la herencia se aplican a todos los organismos de reproducción sexual, de las levaduras microscópicas a los guisantes y al ser humano.

En esta sección, se describe la lógica de la herencia genética en los organismos que se reproducen sexualmente. Se verá cómo el comportamiento de los cromosomas durante la meiosis –su segregación en gametos que luego se unen en forma aleatoria y forman una descendencia genéticamente única– explican las leyes de la herencia deducidas en forma experimental. Para comenzar, se analiza cómo Mendel, cultivando guisantes en el jardín de su monasterio, descubrió estas leyes en el siglo XIX.

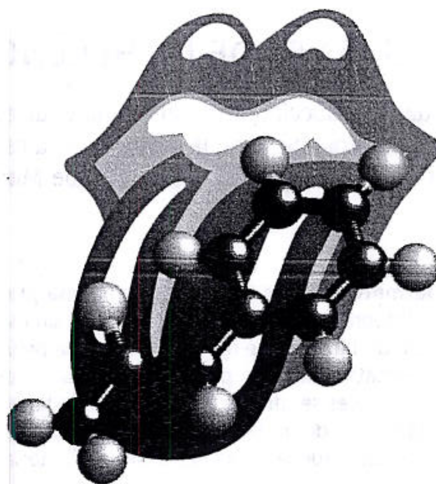


Figura 19-17. Algunas personas sienten su sabor, otras no. La capacidad para percibir el sabor de la sustancia química feniltiocarbamida (PTC) depende de un solo gen. Desde la década de los treinta, los genetistas saben que la incapacidad de percibir el sabor de la PTC se hereda en forma mendeliana, pero hasta 2003, los investigadores no identificaron el gen responsable, que codifica un receptor de sabor amargo. Las personas que no sienten el sabor producen una proteína receptora de PTC que contiene sustituciones de aminoácidos que se considera que reducen su actividad.

Mendel optó por estudiar rasgos que se heredan en forma separada

Al diseñar un experimento para estudiar un tema específico, la elección del organismo apropiado puede ser crítica. Mendel decidió realizar sus estudios en plantas de guisantes. Éstos son fáciles de cultivar con rapidez y en grandes cantidades en espacios pequeños, como en el jardín de una abadía. Además, Mendel podía controlar cómo se cruzaban las plantas entre sí. Cada flor de la planta de guisantes contiene estructuras femeninas y masculinas, y normalmente se autofecundan si se las deja por sí solas. Pero Mendel descubrió que podía polinizar a las plantas en forma cruzada sacando los órganos masculinos inmaduros de una flor y fecundando la planta emasculada con polen (células espermáticas) de otra planta. Así, podía estar seguro del parentesco de cada planta que examinaba.

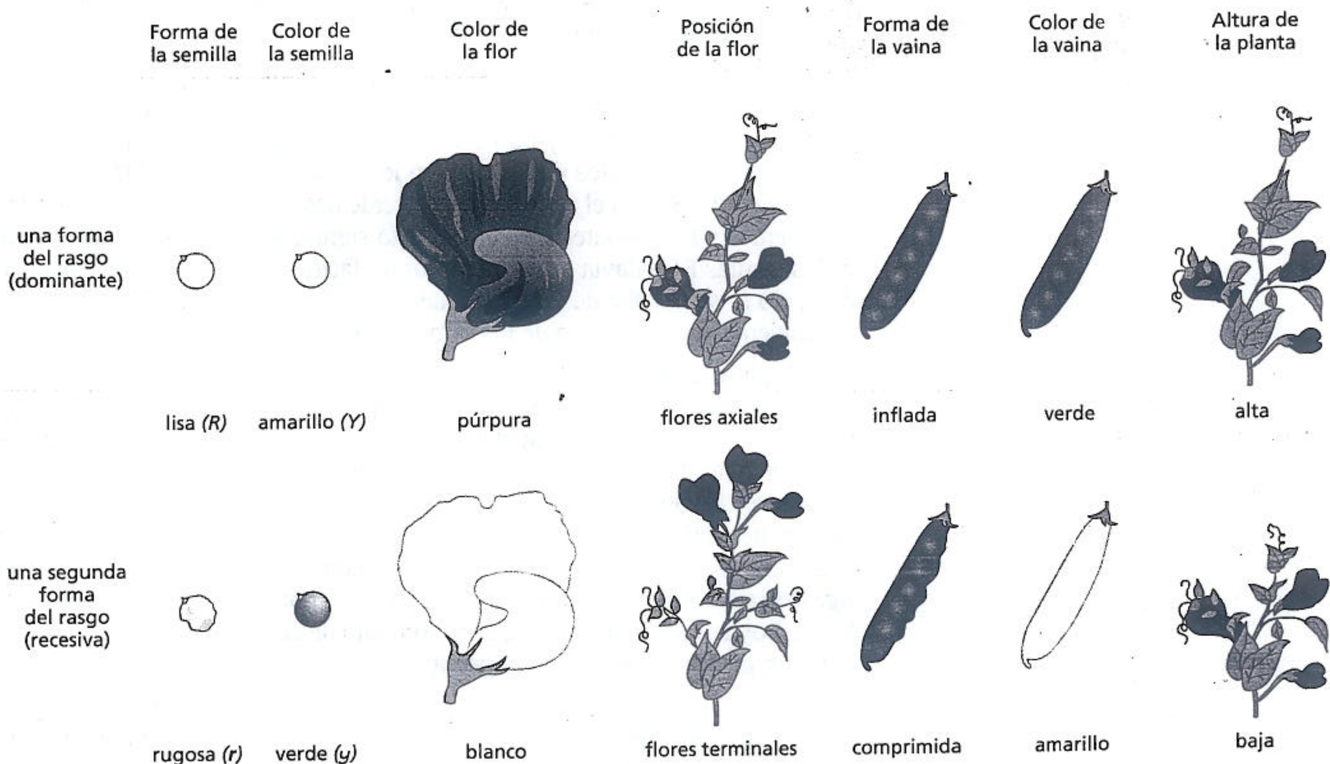
Los guisantes tienen muchas variedades, lo que quizá fue igual de importante para los propósitos de Mendel. Por ejemplo, una variedad presenta flores de color púrpura, y otra, flores de color blanco. Una variedad produce guisantes de cáscara lisa, y la otra, de cáscara rugosa. Mendel eligió seguir grupos de rasgos –como el color de las flores y la forma de la semilla– que eran distintos, fáciles de observar y, lo más importante, que se heredaba en forma separada **(Fig. 19-18)**. En otras palabras, las plantas tienen flores de color púrpura o flores blancas, no hay colores intermedios.

Mendel logró refutar las teorías alternativas de la herencia

Los experimentos de reproducción que realizó Mendel fueron muy simples. Comenzó con cepas de plantas genéticamente puras, de cepas puras. Cuando las plantas de cepas puras se autopolinizan, toda su descendencia es igual. Por ejemplo, para investigar el color de las semillas, elegía plantas de guisantes amarillos que siempre producían descendencia con guisantes amarillos, y plantas de guisantes verdes que siempre producían descendencia de guisantes verdes.

Mendel adoptó el enfoque singular de estudiar un rasgo por vez. Sus predecesores se habían concentrado en organismos enteros que variaban en muchos ras-

Figura 19-18. Mendel estudió siete rasgos diferentes que se transmiten en forma separada. Para cada rasgo, las plantas presentan una variación o la otra. Es decir, una planta de guisantes produce guisantes amarillos o verdes, pero no de colores intermedios. Como se verá, una forma de cada rasgo es dominante, mientras que la otra es recesiva.



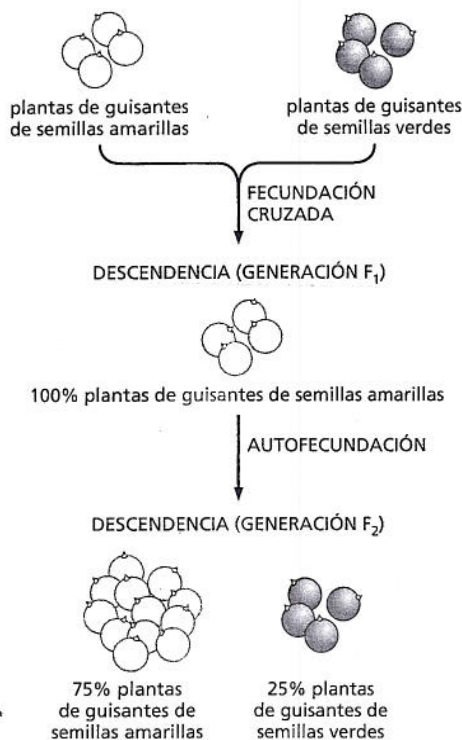


Figura 19-19. Un conjunto de experimentos simples revelaron el carácter independiente de la herencia. El cruzamiento entre plantas puras de guisantes verdes y plantas puras de guisantes amarillos siempre produce descendencia con guisantes amarillos. Pero, como se ilustra, cuando esta descendencia (las plantas F_1) es cruzada entre sí, el 25% de la progenie produce guisantes verdes.

gos, y a menudo concluían sus estudios tratando de caracterizar a la descendencia cuyo aspecto variaba en forma tan compleja que la progenie no se podía comparar fácilmente con sus progenitores. En un experimento típico, Mendel tomaba dos de estas variedades puras y las polinizaba en forma cruzada. Luego, registraba la herencia del rasgo elegido en la siguiente generación. Por ejemplo, Mendel cruzó plantas de guisantes amarillos con plantas de guisantes verdes. En este caso, descubrió que toda la descendencia híbrida resultante, llamada primera generación filial o *F1*, tenía guisantes amarillos (**Fig. 19-19**). Para todos los rasgos estudiados, obtuvo un resultado similar: los híbridos F1 se parecían todos sólo a uno de sus dos progenitores.

A partir de su experimento con plantas de guisantes de semillas verdes y amarillas, Mendel pudo concluir que el color de las semillas no se transmite por mezcla. Si fuera así, los guisantes de la generación F1 hubieran sido de color verde amarillento. Sin embargo, en la superficie, los resultados parecían avalar una teoría de herencia uniparental, que plantea que el aspecto de la descendencia coincidirá con el de un progenitor o con el del otro. Si Mendel no hubiera continuado el experimento y se hubiera limitado a observar sólo la generación F1, podría haber extraído conclusiones erróneas acerca del carácter de la herencia. Por fortuna, continuó con el paso siguiente de sus experimentos: cruzar las plantas de la generación F1 entre sí o permitir que se autofecundaran, y examinar los resultados.

Los experimentos de Mendel fueron los primeros en revelar el carácter independiente de la herencia

Mendel ideó los siguientes experimentos con las plantas híbridas de F1 para buscar respuesta a una pregunta obvia: ¿qué había sucedido con los rasgos que desaparecieron en la generación F1, como el color verde de los guisantes (véase Fig. 19-19)? ¿Las plantas con guisantes verdes no hacían una contribución genética a sus descendientes? Para descubrirlo, Mendel dejó que las plantas F1 se autofecundaran. Si el rasgo para guisantes verdes, por ejemplo, se hubiera perdido, las plantas F1 producirían sólo plantas con guisantes amarillos en la siguiente generación, F2. Mendel utilizó una muestra grande y llevó un registro exacto de los resultados. Y descubrió que el rasgo 'desaparecido' retornaba: en la generación F2, tres cuartos de la descendencia tenía guisantes amarillos, pero un cuarto tenía guisantes verdes (véase Fig. 19-19).

Los resultados refutaron definitivamente la teoría de la herencia mezclada. La mezcla no podía explicar de ninguna manera cómo el cruzamiento entre una planta con guisantes amarillos y otra con guisantes verdes podía dar plantas con guisantes verdes. Pero estos datos también le suministraron a Mendel un indicio de lo que sucedía. Si bien el rasgo guisante verde desaparecía en forma transitoria en la generación F1, reaparecía en la F2. Esto significaba que por lo menos algunas de las plantas F1 todavía debían albergar un factor que especificara guisantes verdes: sólo estaba oculto de alguna manera. Mendel observó el mismo tipo de comportamiento para cada uno de los otros seis rasgos que examinó.

Para explicar estas observaciones, Mendel propuso que la herencia de los rasgos es gobernada por factores hereditarios (que, en la actualidad, se denominan genes), y que estos factores actúan como partículas independientes que permanecen separadas en lugar de mezclarse. Además, sugirió que los genes se presentan en versiones alternativas que explican las variaciones observadas de las características hereditarias. El gen que dictamina el color de las semillas, por ejemplo, existe en dos formas: una que rige la producción de guisantes amarillos y otra que rige la producción de guisantes verdes. Estas versiones alternativas de un gen son lo que hoy se llaman **alelos**, y todo el conjunto de alelos de un individuo –su composición genética– se denomina **genotipo**.

Mendel razonó que, para cada característica, una planta debe heredar dos copias, o alelos, de cada gen: uno materno y uno paterno. Postuló que las cepas parentales puras poseían un par de alelos idénticos: las plantas de guisantes amarillos

tenían dos alelos para guisantes amarillos, y las plantas de guisantes verdes, dos alelos para guisantes verdes. Un individuo con dos alelos idénticos se denomina **homocigoto** para ese rasgo. Por el contrario, las plantas híbridas F1 habían recibido dos alelos diferentes: uno que especificaba guisantes amarillos, y el otro, guisantes verdes. Estas plantas eran **heterocigotas** para el rasgo de interés.

El aspecto, o **fenotipo**, de la planta depende de qué versiones de cada alelo obtiene. Para explicar la desaparición de uno de los rasgos en la generación F1, Mendel supuso que, en cualquier par de alelos, uno es *dominante*, y el otro, *recesivo* u oculto. El alelo dominante, siempre que está presente, determina el fenotipo de la planta. En el caso del color de la semilla, el alelo que codifica guisantes amarillos es dominante; el alelo de guisantes verdes es recesivo.

Una consecuencia importante de la heterocigosis, y del carácter dominante o recesivo, es que no todos los alelos que porta un individuo se pueden detectar en su fenotipo. Los seres humanos tienen alrededor de 25.000 genes, y cada uno de nosotros es heterocigoto para gran número de éstos. Así, todos tenemos una gran cantidad de información genética que permanece oculta en nuestro fenotipo personal, pero que puede manifestarse en generaciones futuras.

Cada gameto es portador de un solo alelo para cada rasgo

La teoría de Mendel –que para cada gen, un individuo hereda una copia materna y otra paterna– planteó algunos problemas logísticos. Si un organismo tiene dos copias de cada gen, ¿cómo transmite sólo una copia de cada uno a su progenie? ¿Y cómo se reúnen estos juegos de genes en la descendencia?

Mendel postuló que, cuando se forman el espermatozoide y el óvulo, las dos copias de cada gen presentes en cada progenitor se separan, de manera que cada gameto recibe sólo un alelo para cada rasgo. Así, cada óvulo y cada espermatozoide (polen) recibe sólo un alelo del color de la semilla (amarillo o verde), un alelo de la forma de la semilla (lisa o rugosa), un alelo del color de la flor (púrpura o blanco), etc. Durante la fecundación, el espermatozoide con uno u otro alelo se une con un óvulo que porta uno de los dos alelos, lo que restablece las dos copias del gen para cada rasgo en el óvulo fecundado o cigoto. El tipo de espermatozoide y el tipo de óvulo que se unen en el momento de la fecundación es totalmente aleatorio.

Este principio de la herencia se enuncia en la primera ley de Mendel, la **ley de segregación**, que afirma que los dos alelos para cada rasgo se separan (o segregan) durante la formación de los gametos y que, después, se unen en forma aleatoria –uno de cada progenitor– en el momento de la fecundación. Según la ley de la segregación, las plantas híbridas F1 con guisantes amarillos producirán dos tipos de gametos: la mitad de los gametos tendrá un alelo de guisantes amarillos, y la mitad, un alelo de guisantes verdes. Cuando las plantas híbridas se autopolinizan, estas dos clases de gametos se unirán en forma aleatoria. Así, un óvulo con un alelo de guisantes verdes tiene la misma probabilidad de ser fecundado por un grano de polen portador de un alelo deguisantes verdes o para guisantes amarillos. Lo mismo es válido respecto de un óvulo portador de un alelo de guisantes amarillos. Así, cuatro combinaciones diferentes de alelos se pueden unir en la generación F2 (Fig. 19-20). Una cuarta parte de las plantas recibirá dos alelos que especifica guisantes verdes; éstos tendrán guisantes verdes. Una cuarta parte de las plantas recibirá dos alelos que codifican guisantes verdes; estas plantas, sin duda, producirán guisantes verdes. Un cuarto de las plantas recibirá dos alelos para guisantes amarillos y producirán guisantes amarillos. Pero la mitad de las plantas heredará un alelo de guisantes amarillos y un alelo de guisantes verdes. Como el alelo amarillo es dominante, estas plantas –al igual que sus progenitores heterocigotos F1– producirán guisantes amarillos. Por lo tanto, las tres cuartas partes de la descendencia tendrán guisantes amarillos y una cuarta parte tendrá guisantes verdes. La ley de la segregación de Mendel explica por lo tanto la relación 3:1 que observó en la generación F2.

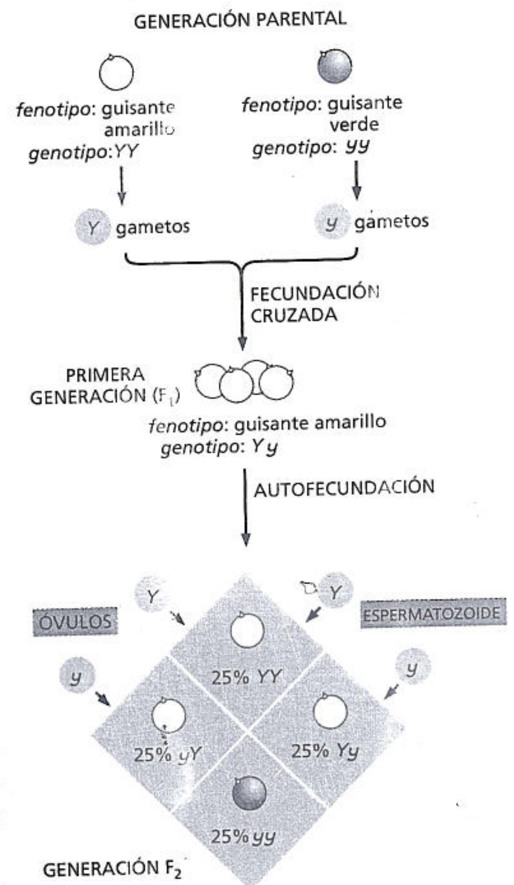


Figura 19-20. Las plantas progenitoras producen gametos que contienen, cada uno, un alelo para cada rasgo; el fenotipo de la descendencia depende de la combinación de alelos que reciba. Aquí se ilustra el genotipo y el fenotipo de las plantas de guisantes que fueron cruzadas en la figura 19-19. Las plantas puras de guisantes amarillos producen solo gametos *Y*; las plantas puras de guisantes verdes producen solo gametos *y*. El genotipo de su descendencia, que produce guisantes amarillos, es *Yy*. Cuando estas plantas híbridas se cruzan entre sí, el 75% de la descendencia tiene guisantes amarillos, y el 25%, guisantes verdes. El recuadro gris de la parte inferior de la figura, denominado tablero de Punnett en honor al matemático británico seguidor de Mendel, permite rastrear la separación de los alelos durante la formación de los gametos y predecir las posibles combinaciones en el momento de la fecundación. De acuerdo con el sistema inventado por Mendel, el alelo dominante se simboliza con letra mayúscula y el alelo recesivo, con letra minúscula.

La ley de la segregación de Mendel se aplica a todos los organismos de reproducción sexual

La ley de la segregación de Mendel explicó los datos de todos los rasgos que él examinó en los guisantes. Mendel también logró reproducir sus hallazgos básicos con el maíz y con las habas. Sin embargo, sus leyes de la herencia no se limitan a la reproducción en las plantas. El concepto de Mendel de gen y su ley de la segregación se puede generalizar a todos los organismos de reproducción sexual, incluidos los seres humanos.

Considérese un fenotipo humano que refleja la acción de un solo gen. La principal forma de albinismo –albinismo tipo II– es un cuadro raro que se hereda en forma recesiva en muchos animales y también en el ser humano. En otras palabras, al igual que las plantas de guisantes que producen semillas verdes, los albinos son homocigotos para el alelo recesivo (*a*) de un gen particular. Su genotipo es *aa*. El alelo dominante (*A*) del gen codifica una enzima que participa en la síntesis de melanina, el pigmento responsable de la mayor parte del color marrón y negro del cabello, la piel y la retina. El alelo recesivo codifica una versión de esta enzima que es menos activa o completamente inactiva. En ausencia de esta enzima, los albinos tienen cabello blanco, piel blanca y pupilas que impresionan rosadas porque la falta de coloración revela el color rojo de la hemoglobina presente en los vasos sanguíneos de la retina.

Si un hombre con albinismo tipo II (genotipo *aa*) tiene hijos con una mujer albina tipo II (cuyo genotipo también es *aa*), todos ellos serán albinos (*aa*). En cambio, si un hombre no albino se casa y tiene hijos con una mujer albina (se asume que el hombre es homocigota para el alelo dominante *A*; el albinismo es muy raro, y si no existió ningún caso en su familia, es probable que este genotipo sea válido), sus hijos tendrán pigmentación normal, es decir, ninguno será albino. Este resultado refleja los cruzamientos de Mendel entre plantas de guisantes puras. El padre aporta un alelo *A* dominante a cada gameto, y la madre, un alelo *a* recesivo. Toda la descendencia, con genotipo *Aa*, tendrá el fenotipo dominante (Fig. 19-21). Si uno de los hijos algún día forma una familia con un individuo de genotipo similar (un hombre o una mujer con un progenitor albino), es previsible que sus hijos cumplan el patrón observado en la generación F2 de Mendel: cada tres hijos con pigmentación normal, habrá, en promedio, un hijo albino. O, desde el punto de vista de un niño individual, cada uno tendrá una probabilidad del 25% de recibir dos alelos recesivos.

Por supuesto, los seres humanos en general no tienen familias tan numerosas para garantizar las proporciones mendelianas exactas. (Mendel llegó a estas relaciones cultivando y contando miles de guisantes en la mayoría de sus cruzamientos). Los genetistas interesados en estudiar la herencia de rasgos específicos en el ser humano solucionan este problema trabajando con gran cantidad de familias o con varias generaciones de unas pocas familias grandes. A fin de rastrear este tipo de información, los genetistas preparan una **genealogía** que muestra el fenotipo de cada miembro de la familia para el rasgo relevante. La figura 19-22 presenta un ejemplo que ilustra una consecuencia práctica importante de las leyes de Mendel: muestra cómo el casamiento entre primos hermanos aumenta mucho el riesgo de tener hijos homocigotos para una mutación recesiva deletérea y, por consiguiente, con un fenotipo mutante.

Los alelos de rasgos diferentes se distribuyen en forma independiente

Mendel simplificó deliberadamente el problema de la herencia al realizar cruzas monohíbridas: experimentos de reproducción que investigaban la herencia de un solo rasgo por vez. Después, continuó sus estudios y examinó la herencia simultánea de dos o más rasgos en apariencia no relacionados.

En la situación más simple, un *cruzamiento dihíbrido*, Mendel estudió la heren-

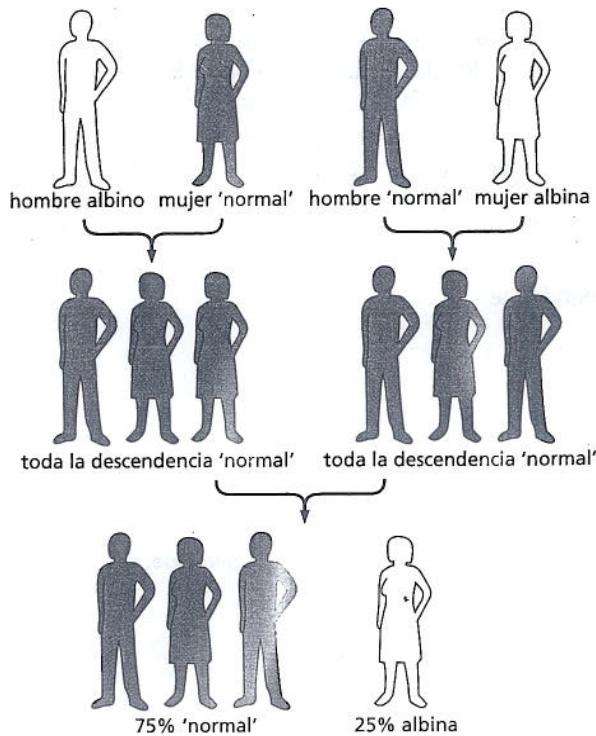


Figura 19-21. La ley de la segregación de Mendel se aplica a todos los organismos de reproducción sexual. Aquí, se rastrea la herencia del albinismo, un rasgo recesivo asociado con un solo gen en los seres humanos.

cia de dos rasgos por vez, p. ej., el color de la semilla y la forma de la semilla. Con respecto al color, se ha visto ya que el amarillo es dominante sobre el verde. En el caso de la forma de la semilla, la forma lisa es dominante sobre la rugosa. Mendel se preguntó qué sucedería si se cruzan dos plantas que difieren en ambos rasgos. También en este caso, comenzó con cepas puras de progenitores: la cepa dominante produjo guisantes amarillos y lisos (genotipo *YYRR*), y la cepa recesiva, guisantes verdes y rugosos (genotipo *yyrr*). Una posibilidad es que ambos caracteres, el color y la forma de la semilla, se transmitan juntos de padres a hijos, como un paquete ligado. En otras palabras, las plantas siempre producirían guisantes amarillos y lisos o verdes y rugosos. La otra posibilidad es que el color y la forma de la semilla se hereden en forma independiente uno de otra, lo que significa que, en algún momento, surgirán plantas que producen una nueva combinación de rasgos: guisantes amarillos y rugosos o verdes y lisos.

Mendel cruzó las plantas y registró sus resultados en forma cuidadosa. Como era de esperar, la generación F_1 mostró un solo fenotipo: todas las plantas produjeron guisantes amarillos y lisos. Pero esto ocurriría sin importar que los alelos parentales estuvieran ligados. Cuando se permitió la autofecundación de esta plantas

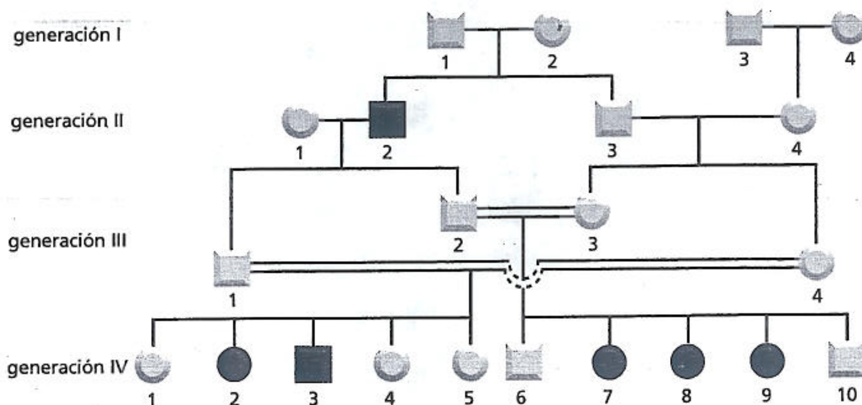


Figura 19-22. Un pedigrí muestra los riesgos de los casamientos entre primos hermanos. Aquí se presenta el pedigrí real de una familia que alberga una rara mutación recesiva que provoca sordera. Según la convención, los *cuadrados* representan hombres, los *círculos*, mujeres. Los miembros de la familia que presentan el fenotipo sordo se indican con símbolo lleno *(azul)*; los que no están afectados se indican con símbolo hueco *(blanco)*. Una sola línea horizontal que conecta a un hombre y una mujer representa una pareja entre individuos no emparentados, y una doble línea horizontal, una pareja entre familiares consanguíneos. Abajo se muestra la descendencia de cada pareja, en orden de nacimiento de izquierda a derecha.
Dentro de cada generación, los individuos son rotulados secuencialmente de izquierda a derecha para su identificación. En la tercera generación de este pedigrí, por ejemplo, el individuo 2, un hombre que no es sordo, se casa con su prima hermana, el individuo 3, que tampoco es sorda, Tres de sus cinco hijos (individuos 7, 8 y 9 de la cuarta generación) son sordos. Mientras tanto, el individuo 1, el hermano de 2, también se casa con una prima hermana, el individuo 4, la hermana de 3. Dos de sus cinco hijos son sordos. (Adaptado de Z.M. Ahmed et al., *BMC Med. Genet.* 5:24, 2004. Con autorización de BMC Medical Genetics).

F_1, los resultados demostraron con claridad que cada rasgo se hereda de manera independiente; es decir, los dos alelos del color de la semilla se distribuyen independientemente de los de la forma, lo que produce cuatro fenotipos distintos de guisantes: amarillos y lisos, amarillos y rugosos, verdes y lisos, y verdes y rugosos (Fig. 19-23). Mendel estudió siete caracteres de los guisantes en diversas combinaciones de a pares y siempre observó una relación fenotípica 9:3:3:1 en la generación F_2. La distribución independiente de cada par de alelos durante la formación de los gametos se conoce como la segunda ley de Mendel: la **ley de la distribución independiente**.

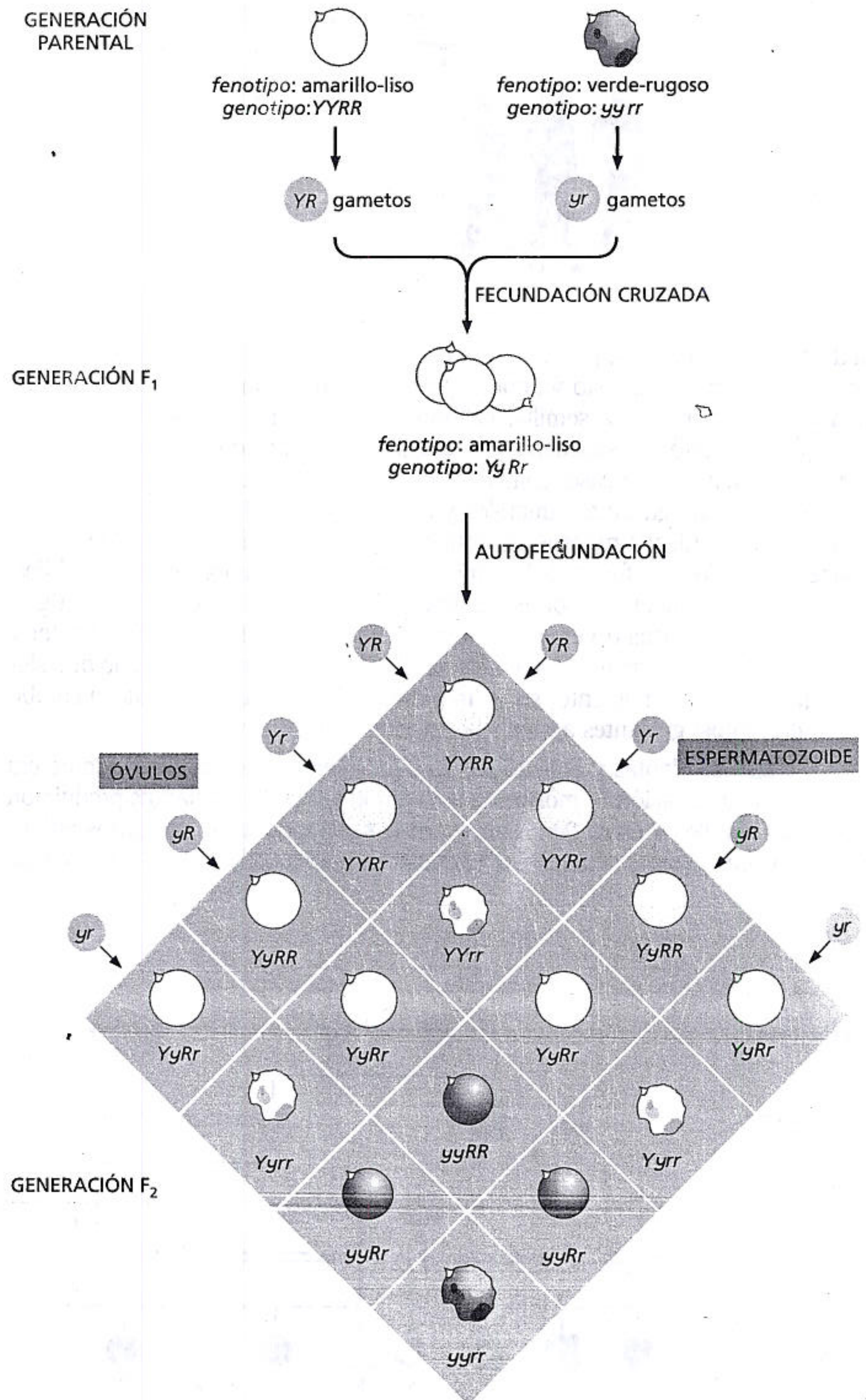


Figura 19-23. Un cruzamiento dihíbrido demuestra que los alelos de distintos rasgos se pueden segregar en forma independiente uno del otro. Cuando los alelos se segregan en forma independiente uno del otro, quedan en distintos gametos en todas las combinaciones posibles. Por lo tanto, el alelo *Y* tiene la misma probabilidad de quedar junto con el alelo *R* o con el alelo *r* durante la formación de los gametos; y lo mismo es válido para el alelo *y*. Así, se producirían cuatro clases de gametos en cantidades aproximadamente iguales: *YR*, *Yr*, *yR* e *yr*. Cuando se permite que estos gametos se combinen al azar para producir la generación F_2, los fenotipos resultantes de los guisantes son amarillo-liso, amarillo-rugoso, verde-liso y verde-rugoso en una relación de 9:3:3:1.

El comportamiento de los cromosomas durante la meiosis responde a las leyes de la herencia de Mendel

Hasta ahora, se ha hablado de los alelos y de los genes como entidades aisladas. Como biólogos, sin embargo, nos interesa la herencia más que como una serie de relaciones matemáticas y probabilidades: la probabilidad de que una planta de guisantes tenga flores de color púrpura o de que un niño nazca albino. Queremos comprender cómo funciona la herencia en el espermatozoide, en el óvulo y en el cigoto resultante. Mendel había asumido que los genes se localizan en las células, pero no sabía cómo estaban compuestos ni dónde se los podía hallar. Hoy se sabe que los "factores" mendelianos –que llamamos genes– se encuentran en los cromosomas, que se distribuyen durante la formación de los gametos y, en el momento de la fecundación, se unen en nuevas combinaciones en el cigoto. Por lo tanto, los cromosomas son la base física de las leyes de Mendel. Como se verá, su comportamiento durante la meiosis y la fecundación explica perfectamente las leyes de Mendel.

Durante la meiosis, como se explicó antes, los homólogos materno y paterno –y los genes que se localizan en ellos– se aparean y luego se separan uno del otro distribuyéndose en los gametos. Estos cromosomas homólogos presentarán diferentes variantes –o alelos– de muchos de los genes que contienen. Tómese por ejemplo, una planta de guisantes heterocigota para guisantes amarillos (*Yy*). Durante la meiosis, los cromosomas que contienen los alelos *Y* e *y* se separan, lo que produce dos tipos de gametos haploides, unos con el alelo *Y*, y otros con el alelo *y*. En la autofecundación, estos gametos haploides se reúnen en forma aleatoria dando lugar a los individuos diploides de la generación siguiente, que pueden ser *YY*, *Yy* o *yy*. Los mecanismos meióticos que inducen la separación de los alelos en los gametos y la recombinación aleatoria de los gametos en la fecundación dan origen a los resultados exactos que describen las leyes de Mendel de la genética.

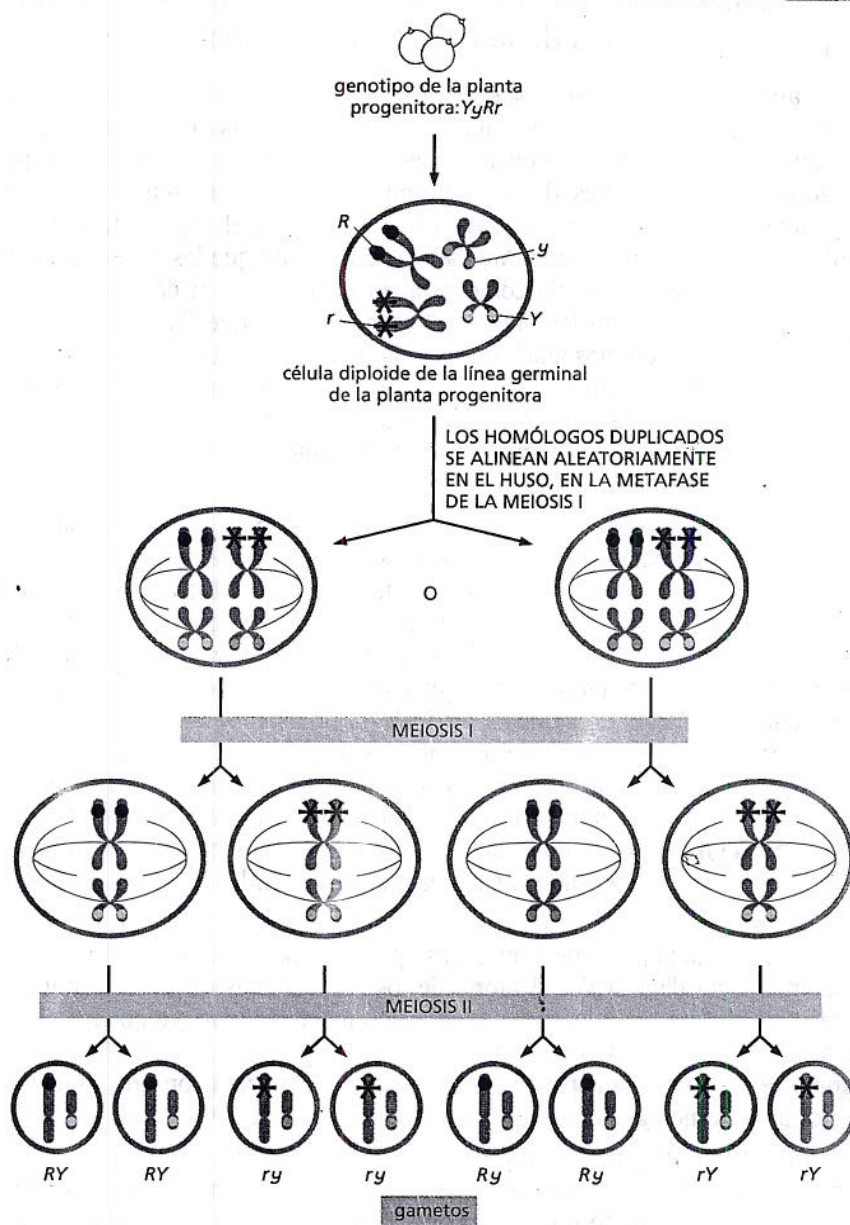
En la meiosis, cada juego de homólogos apareados se une al huso en forma independiente. Esta disposición aleatoria de los cromosomas en el huso durante la metafase se refleja en la ley de la distribución independiente, ya que los genes de diferentes cromosomas se heredarán de manera independiente. Si bien cada gameto recibe una sola copia de cada cromosoma, termina con una combinación aleatoria de homólogos maternos y paternos (véase Fig. 19-13A).

La **figura 19-24** diagrama este proceso en una planta de guisantes heterocigota para el color (*Yy*) y la forma (*Rr*) de la semilla. El par de cromosomas portadores de los alelos del color se unirán al huso meiótico con una determinada orientación. La captura del homólogo *Y* o del homólogo *y* por los microtúbulos de uno u otro polo depende del lado hacia el cual se orienta el bivalente en el momento de la unión (véase Fig. 19-24). Lo mismo es válido para el par de cromosomas portador de los alelos que codifican la forma de la semilla. Por lo tanto, que el gameto final reciba la combinación de alelos *YR*, *Yr*, *yR* o *yr* depende por entero de la dirección en que estaban los dos pares de cromosomas al ser capturados por el huso meiótico, que es tan aleatoria como arrojar una moneda a cara o cruz.

Los entrecruzamientos cromosómicos se pueden utilizar para determinar el orden de los genes

Mendel estudió siete rasgos codificados por otros tantos genes, cada uno de los cuales se segregaba en forma independiente de las demás. Hoy se sabe que la mayoría de estos genes estaban localizados en cromosomas diferentes, lo que explica la distribución aleatoria observada por Mendel. Pero la observación de Mendel de que diferentes rasgos se distribuyan en forma independiente no exige necesariamente que los genes pertenezcan a cromosomas diferentes. Los genes que están lo bastante alejados entre sí en el mismo cromosoma también se distribuyen en forma independiente, debido a los entrecruzamientos que ocurren

Figura 19-24. La separación de los cromosomas durante la meiosis explica las leyes de Mendel de la segregación y de la distribución independiente. Aquí se muestra la distribución independiente de los alelos para el color de la semilla, amarillo *(Y)* y verde *(y)*; y para la forma de la semilla, lisa *(R)* o rugosa *(r)*, que corresponden a dos genes de diferentes cromosomas. Para simplificar, se ha dibujado la figura para el caso en el que no hay ninguna recombinación entre los homólogos materno y paterno; el resultado –distribución independiente– es el mismo (dado que los genes del color de la semilla y la forma de la semilla están localizados en cromosomas diferentes) si hay recombinación.



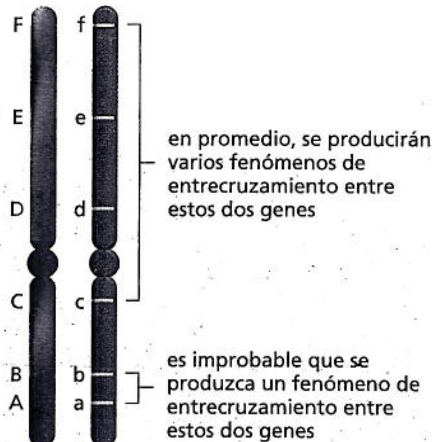


Figura 19-25. Los genes que están localizados suficientemente lejos en el mismo cromosoma se pueden distribuir en forma independiente. Como se producen varios entrecruzamientos al azar a lo largo de cada cromosoma durante la profase de la meiosis I, dos genes del mismo cromosoma obedecerán a las leyes de Mendel de la distribución independiente si están lo suficientemente alejados. Por ejemplo, hay una alta probabilidad de que haya entrecruzamientos en la región larga entre *C/c* y *F/f*, lo que hace que la probabilidad de unión con el alelo *c* sea igual para un gameto que contiene el alelo *F* que el *C*. Por el contrario, los genes *A/a* y *B/b* están cerca, de manera que sólo hay una pequeña probabilidad de entrecruzamiento entre ellos: así, es probable que el alelo *A* se herede en forma conjunta con el alelo *B*, y que el alelo *a* lo haga con el alelo *b*. A partir de la frecuencia de recombinación, se pueden estimar las distancias entre los genes.

durante la meiosis. Como ya se comentó, cuando los cromosomas duplicados forman bivalentes y se alinean en el huso metafásico, los homólogos maternos y paternos suelen presentar varios fenómenos de recombinación y, por ende, intercambian material genético. Estos fenómenos de entrecruzamiento pueden separar alelos que antes estaban juntos en el mismo cromosoma, lo que determina que se distribuyan en gametos diferentes (**Fig. 19-25**). Por ejemplo, hoy se sabe que los genes de Mendel para la forma del guisante y el color de la vaina se localizan en el mismo cromosoma, pero, como están alejados, se distribuyen en forma independiente.

Por supuesto, no todos los genes se heredan en forma independiente de acuerdo con la segunda ley de Mendel. Los genes que están muy cerca en un cromosoma, se heredan como una unidad. Por ejemplo, los genes asociados con la ceguera para los colores rojo y verde y la hemofilia en el ser humano se heredan juntos por esta razón. Al registrar la frecuencia con la que los genes se heredan en forma conjunta, los investigadores pueden determinar si éstos residen en el mismo cromosoma y, en tal caso, a qué distancia se encuentran. Estas determinaciones de *ligamiento genético* se han utilizado para mapear las posiciones relativas de los genes en cada cromosoma de muchos organismos. Estos *mapas genéticos* han

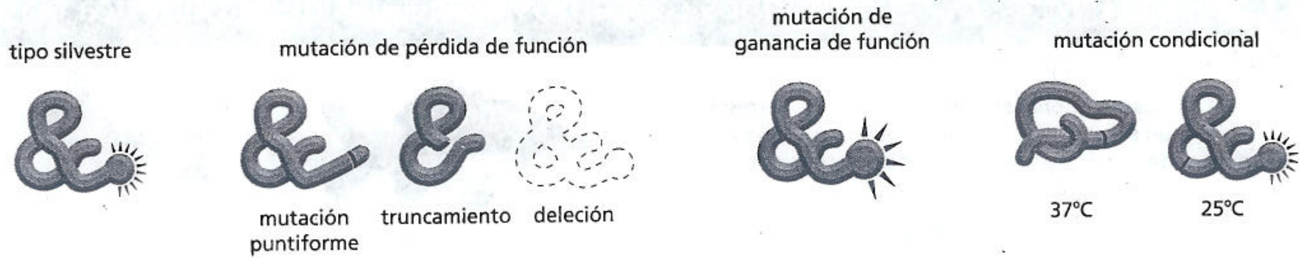


Figura 19-26. Las mutaciones génicas pueden afectar de distintas maneras el producto proteico. En este ejemplo, la proteína de tipo silvestre cumple una función específica denotada por los *rayos rojos*. Se representan mutaciones que eliminan esta función, la tornan hiperactiva o sensible a temperaturas más altas. Una *mutación termosensible* es un tipo de *mutación condicional*: el alelo produce proteína activa en una condición (25°C, en este caso) pero proteína inactiva en otra. Aquí, la proteína presenta una sustitución de aminoácido (*rojo*) que impide que se pliegue correctamente a 37 °C, pero permite el plegamiento correcto a 25 °C.

sido cruciales para aislar y caracterizar genes cuya alteración por mutación es responsable de enfermedades genéticas humanas, como la fibrosis quística.

Las mutaciones de los genes pueden causar pérdida o ganancia de función

Las mutaciones se pueden clasificar en una serie de categorías básicas diferentes (Fig. 19-26). Los cambios que reducen o anulan la actividad de un gen se denominan **mutaciones de pérdida de función**. Por lo general, un organismo que recibe dos copias de un alelo con pérdida de función presenta un fenotipo mutante. El heterocigoto, que tiene un alelo mutante y un alelo de tipo silvestre, suele producir suficiente producto génico activo par funcionar normalmente y conservar el fenotipo de tipo silvestre (Lámina 19-1, p. 674). Así, las mutaciones de pérdida de función suelen ser recesivas porque, en la mayoría de los genes, la mitad de la cantidad normal de producto génico es suficiente para que la célula funcione normalmente.

Por ejemplo, en el caso de los guisantes rugosos de Mendel, el gen que determina la forma de la semilla codifica una enzima que ayuda a convertir los azúcares en moléculas de almidón ramificadas. El alelo dominante de tipo silvestre, *R*, produce la enzima activa; el alelo recesivo, mutante, *r*, no. En ausencia de esta enzima, las plantas que son homocigotas para el alelo *rr* contienen más azúcar –y producen menos almidón– que las plantas que tienen el alelo dominante *R*, que dan guisantes de aspecto rugoso. (Los guisantes congelados del supermercado son mutantes rugosos, aunque los alelos que tienen pueden no ser los mismos que utilizó Mendel).

Otra clase de alelos mutantes producen proteínas que son hiperactivas o activas en circunstancias inapropiadas. Estas **mutaciones de ganancia de función** suelen ser dominantes. Por ejemplo, como se vio en el capítulo 16, ciertas mutaciones que codifican Ras, una proteína que interviene en el control del crecimiento y la proliferación celular, generan una forma de la proteína que está siempre activa y, por lo tanto, eclipsa al alelo de tipo silvestre. La proteína Ras mutante puede estimular la división celular inapropiada, aun en ausencia de cualquier señal de crecimiento. Alrededor del 30% de los cánceres humanos contienen estas mutaciones activadoras dominantes del gen *Ras*.

> **PREGUNTA 19-3**
> Suponga que cada cromosoma presenta sólo un fenómeno de entrecruzamiento en cada cromátida durante cada meiosis. ¿Cómo sería la herencia conjunta de rasgos determinados por genes que se hallan en extremos opuestos del mismo cromosoma, en comparación con la de genes localizados en dos cromosomas diferentes? ¿Cómo se puede comparar esto con la situación real?

Todos somos portadores de alelos mutantes recesivos potencialmente perjudiciales

Como se expresó en el capítulo 9, las mutaciones son la base de la evolución. Pueden alterar la aptitud de un organismo y hacer que sea más (o menos) probable que pueda sobrevivir y dejar descendencia. La selección natural determina si se preservan estas mutaciones. Los cambios que confieren una ventaja selectiva a un organismo tienden a perpetuarse, mientras que aquellos que comprometen la aptitud de un organismo tienden a perderse.

La gran mayoría de las mutaciones aleatorias son neutras, sin efecto sobre el fenotipo, o aleatorias. Una mutación aleatoria dominante –una que ejerce sus efectos negativos cuando está presente aun en una sola copia– será eliminada casi

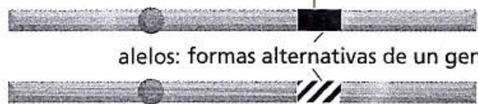
LÁMINA 19-1 Algunos conceptos esenciales de la genética clásica

GENES Y FENOTIPOS

Gen: unidad funcional de herencia, que suele corresponder a un segmento de DNA que codifica una sola proteína

Genoma: todas las secuencias de DNA de un organismo

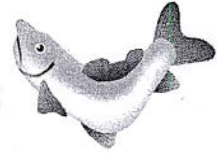
locus: sitio de un gen en el genoma



alelos: formas alternativas de un gen



Tipo silvestre: forma normal presente en la naturaleza



Mutante: difiere del tipo silvestre por un cambio genético (una mutación)

GENOTIPO: conjunto específico de alelos que forman el genoma de un individuo

FENOTIPO: características visibles del individuo

homocigoto A/A





heterocigoto a/A





homocigoto a/a





el alelo A es dominante (respecto de a); el alelo a es recesivo (respecto de A)

En el ejemplo previo, el fenotipo del heterocigoto es el mismo que el de uno de los homocigotos; en los casos en que es diferente de ambos, se dice que los dos alelos son codominantes.

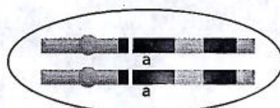
¿DOS GENES O UNO?

Dadas dos mutaciones que producen el mismo fenotipo, ¿cómo podemos decir si son mutaciones del mismo gen? Si son mutaciones recesivas (como en la mayoría de los casos), se puede encontrar la respuesta mediante una prueba de complementación.

En el tipo más simple de prueba de complementación, se aparea un homocigoto para una mutación con un individuo que es homocigoto para la otra. El fenotipo de la descendencia responde la pregunta.

COMPLEMENTACIÓN: MUTACIONES EN DOS GENES DIFERENTES

Madre mutante homocigota

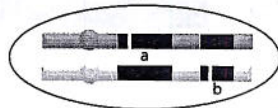




Padre mutante homocigoto





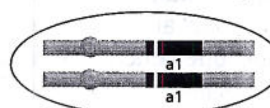




La descendencia híbrida presenta un fenotipo normal: hay una copia normal de cada gen

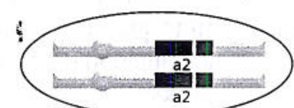
AUSENCIA DE COMPLEMENTACIÓN: DOS MUTACIONES INDEPENDIENTES EN EL MISMO GEN

Madre mutante homocigota

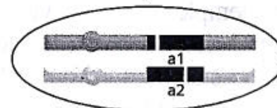


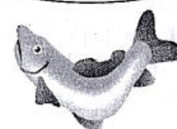


Padre mutante homocigoto



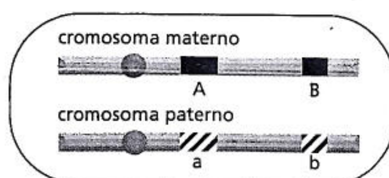






La descendencia híbrida presenta el fenotipo mutante: no hay ninguna copia normal del gen mutado

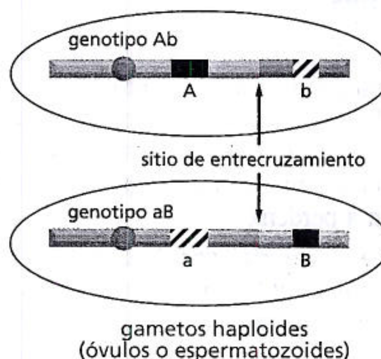
MEIOSIS Y RECOMBINACIÓN GENÉTICA



célula germinal diploide

genotipo $\frac{AB}{ab}$

MEIOSIS Y RECOMBINACIÓN



gametos haploides (óvulos o espermatozoides)

Cuanto mayor es la distancia entre dos loci de un mismo cromosoma, mayor es la probabilidad de que sean separados por entrecruzamiento en un sitio localizado entre ellos. Por lo tanto, si dos genes se hallan distribuidos en el x% de los gametos, se dice que están separados en un cromosoma por una distancia de mapa genético de x unidades de mapa (o de x centimorgans).

tan pronto como aparece: si un organismo mutante no puede reproducirse, la mutación que causa la falla se perderá de la población en cuanto el individuo mutante muere. En el caso de las mutaciones deletéreas recesivas, el cuadro es un poco más complicado. Cuando surge una mutación de este tipo por primera vez (por algún accidente químico en una molécula de DNA), en general estará presente en una sola copia, y el portador de la mutación se reproducirá como otros individuos. Muchos de estos descendientes heredarán una sola copia de la mutación. Ellos también impresionarán aptos y sanos. Pero a medida que ellos y sus descendientes comiencen a aparearse entre sí, algunos individuos heredarán dos copias del alelo mutante y presentarán el fenotipo nocivo.

Si un individuo homocigoto no se reproduce, se perderán de la población dos copias del alelo mutante. Con el tiempo, se alcanza un equilibrio, en el que la velocidad de creación de nuevas copias del alelo por mutaciones recién producidas equilibra la velocidad de pérdida por apareamientos que generan individuos homocigotos. En consecuencia, muchas mutaciones deletéreas recesivas tienen una frecuencia sorprendentemente alta en una población, aunque los individuos que presentan el fenotipo deletéreo son raros. Así, los niños con la forma más común de sordera hereditaria (debida a una mutación en una proteína de unión comunicante; véase Fig. 20-29) representan alrededor de uno cada 4.000 nacimientos, pero uno cada 30 de nosotros somos portadores de un alelo mutante de pérdida de función del gen.

LA GENÉTICA COMO HERRAMIENTA DE EXPERIMENTACIÓN

El descubrimiento de que los cromosomas son las estructuras encargadas de transmitir nuestros genes de una generación a la siguiente hizo mucho más que desmitificar la base de la herencia. Unificó la ciencia de la genética con otras disciplinas: biología celular, bioquímica, fisiología y medicina. También llevó a descubrir que los genes están compuestos por DNA. De esta manera, la genética ha representado un camino hacia nuevos descubrimientos. El examen y la manipulación del DNA permiten comprender cómo funcionan en conjunto nuestros genes dando lugar a nuestro fenotipo, y cómo las diferencias génicas son la base de las diferencias entre los individuos. Cada vez más, el conocimiento de la genética nos permite diagnosticar y tratar con mayor precisión enfermedades humanas, y nos ayuda a descifrar nuestras similitudes y diferencias, en relación con otras personas y con otras especies.

En esta sección, reseñamos el enfoque de la genética clásica para identificar los genes y determinar cómo influyen en el fenotipo de un organismo. El proceso implica la generación intencional de gran número de organismos mutantes en el laboratorio, y su investigación para identificar a los raros individuos que presentan el fenotipo de interés. Este *cribado genético* detecta portadores de mutaciones en los genes que gobiernan el fenotipo. El análisis de estos individuos mutantes y su progenie permite rastrear y caracterizar los propios genes y, finalmente, esclarecer la cadena de causa y efecto que lleva de los genes al fenotipo.

La tecnología moderna ha posibilitado otras maneras de identificar genes con funciones significativas. En la parte final de esta sección, se analiza cómo se puede examinar el DNA recolectado de poblaciones humanas de todo el mundo para obtener indicios de la genética de rasgos y enfermedades genéticas complejos –aquellos que no están regidos por un solo gen– y de la evolución de nuestra especie.

El enfoque clásico comienza con la mutagénesis aleatoria

Antes de la introducción de la tecnología de DNA recombinante (véase capítulo 10), la mayoría de los genes se identificaban observando los procesos alterados en caso de mutación del gen. El análisis comienza con el aislamiento de mutan-

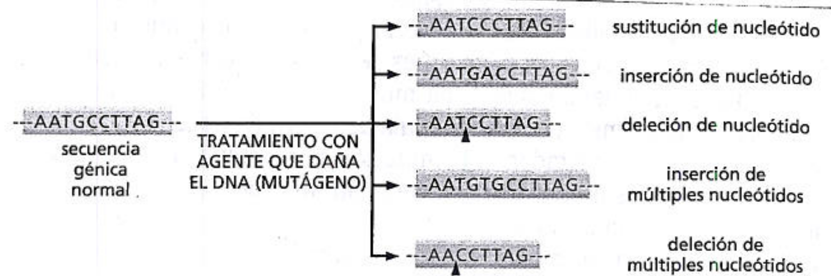


Figura 19-27. Distintas alteraciones en el DNA pueden causar mutaciones. Aquí se muestran algunas categorías frecuentes. Distintos mutágenos tienden a producir distintos tipos de cambios.

tes que tienen aspecto interesante o inusual: p. ej., moscas de la fruta con ojos blancos o con alas rizadas. A partir de este fenotipo, se investiga hacia atrás para determinar el genotipo del organismo. Este enfoque genético clásico –buscar fenotipos mutantes y, después, aislar los genes responsables de ellos– es más fácil de realizar en organismos que se reproducen con rapidez y que son pasibles de manipulación genética, como bacterias, levaduras, gusanos y moscas de la fruta.

Si bien a veces se pueden encontrar mutantes espontáneos examinando poblaciones muy grandes –miles o millones de organismos individuales– el proceso de identificación de mutantes de interés puede ser mucho más eficiente si se provocan mutaciones artificiales con agentes que dañan el DNA, denominados *mutágenos*. Distintos mutágenos pueden generar distintos tipos de alteraciones del DNA (Fig. 19-27). El tratamiento de los organismos con mutágenos puede generar gran número de mutantes en poco tiempo, en los que, después, se investiga el defecto de interés, como se verá más adelante.

La mutagénesis es una herramienta poderosa para identificar genes y relacionarlos con los fenotipos en gusanos y moscas; pero ¿cómo se pueden identificar y estudiar genes en seres humanos? A diferencia de esos organismos, los seres humanos no se reproducen con rapidez, y la mutagénesis deliberada en seres humanos está fuera de cuestión. Además, un ser humano con un defecto grave en un proceso esencial, como la replicación del DNA, morirá mucho antes de nacer.

Hay dos respuestas principales al interrogante de cómo estudiar los genes humanos. En primer lugar, como los genes y sus funciones se han conservado tanto a lo largo de la evolución, se puede descubrir mucho acerca de los genes humanos mediante la investigación de sus homólogos en otros organismos más adecuados para la experimentación. Después, se pueden estudiar mejor los genes humanos correspondientes a células humanas cultivadas. En segundo lugar, muchas mutaciones que no son necesariamente letales, como la mutación que causa la sordera mencionada antes, han surgido de manera espontánea en la población humana y, de hecho, han surgido muchas veces, porque la población humana es muy grande. Los análisis de los fenotipos de los individuos afectados, junto con estudios de sus cultivos celulares, aportaron muchos conocimientos singulares sobre las funciones de los genes humanos. Si bien estos mutantes son raros, se los descubre de manera muy eficiente gracias a una propiedad única del hombre: los individuos mutantes llaman la atención por sus peculiaridades y buscan atención médica especial.

Los cribados genéticos permiten identificar mutantes con deficiencias de procesos celulares específicos

Por lo general, un **cribado genético** implica examinar muchos miles de individuos con mutaciones para hallar a los pocos que presentan alteraciones de un determinado fenotipo de interés. Por ejemplo, para investigar los genes involucrados en el metabolismo celular, se podría efectuar un cribado de células mutantes para elegir aquellas que han perdido la capacidad de crecer en ausencia de un determinado aminoácido u otro nutriente.

Sin embargo, aparece un problema si deseamos estudiar genes requeridos para procesos celulares fundamentales: p. ej., síntesis de RNA o control del ciclo celu-

lar. Los defectos de estos genes suelen ser letales, lo que significa que se requieren estrategias especiales para propagar una reserva de individuos que contengan las mutaciones de interés. Si no se pueden criar mutantes, no se los puede utilizar para estudiar el gen.

Si el organismo es diploide –p. ej., un ratón o una planta de guisantes– y el fenotipo mutante es recesivo, hay una solución simple. Se crían individuos heterocigotos, que tienen una copia buena del gen y una copia defectuosa. Tendrán un fenotipo normal, pero cuando se aparean entre sí, el 25% de sus descendientes serán mutantes homocigotos y presentarán el fenotipo mutante letal, mientras que otro 50% serán portadores heterocigotos de la mutación, como sus progenitores, lo que permite continuar con la reproducción.

Pero ¿qué sucede si el organismo es haploide? Hay un método que se basa en la utilización de *mutantes termosensibles*. En estos mutantes, el producto proteico del gen sólo es condicionalmente defectuoso: funciona con normalidad dentro de ciertos límites de temperatura (el rango de temperatura *permisiva*), pero puede ser desactivado por un pequeño cambio de temperatura que lo lleva fuera de este rango (véase Fig. 19-26). Así, la anormalidad se puede activar y desactivar en forma experimental sólo por modificación de la temperatura. Una célula que contiene una mutación termosensible de un gen esencial se puede mantener viva si crece a la temperatura permisiva; después, se la puede impulsar a expresar el fenotipo mutante mediante un cambio de temperatura (Fig. 19-28).

Se aislaron muchos mutantes sensibles a la temperatura con el propósito de identificar los genes que codifican las proteínas bacterianas necesarias para la replicación del DNA. Se estudiaron grandes poblaciones de bacterias tratadas con mutágenos en busca de células que suspendieran la síntesis de DNA cuando la temperatura aumentaba de 30°C a 42°C. También se utilizaron mutantes termosensibles para identificar muchas de las proteínas que participan en la regulación del ciclo celular (véase capítulo 18) o en el traslado de las proteínas a través de la vía de secreción en las levaduras (véase capítulo 15).

Los genes involucrados en fenotipos complejos, como los cambios en el aprendizaje o en la conducta, también se pueden estudiar por cribados genéticos en organismos modelo. Por ejemplo, los investigadores pudieron aislar un gen que afecta el comportamiento social de los gusanos por medio de la detección sistemática de animales que se alimentan solos (Fig. 19-29).

Una prueba de complementación revela si dos mutaciones están en el mismo gen

Un cribado genético a gran escala puede detectar muchos mutantes diferentes que tienen el mismo fenotipo. Estos defectos podrían hallarse en diferentes genes que funcionan en el mismo proceso o podrían representar diferentes mutaciones del mismo gen. ¿Cómo se puede distinguir entre estas dos posibilidades? Si las mutaciones son recesivas, p. ej., si representan una pérdida de función de un gen en particular, una **prueba de complementación** permite revelar si se encuentran en el mismo o en distintos genes.

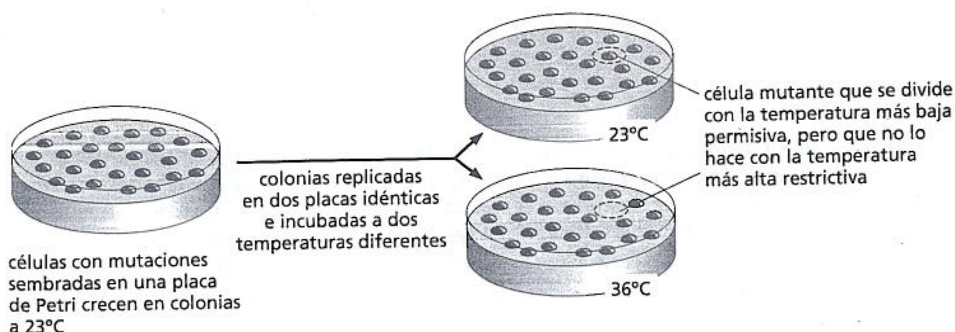


Figura 19-28. Los mutantes sensibles a la temperatura son valiosos para identificar genes y proteínas que participan en procesos celulares esenciales. Aquí, se incuban células de levadura con una sustancia química que genera mutaciones en su DNA. Después, se las siembra en una placa de cultivo a una temperatura relativamente baja, y se permite que crezcan y formen colonias. Después, se transfieren las colonias a dos placas de Petri idénticas mediante la técnica de replicación en placas. Una de las placas se incuba a la temperatura baja, y la otra, a una temperatura más alta. Se pueden identificar con facilidad las células que contienen una mutación termosensible de un gen esencial para la proliferación, porque se dividen a la temperatura más baja, la temperatura permisiva, pero no a una temperatura mayor, la temperatura no permisiva o restrictiva.

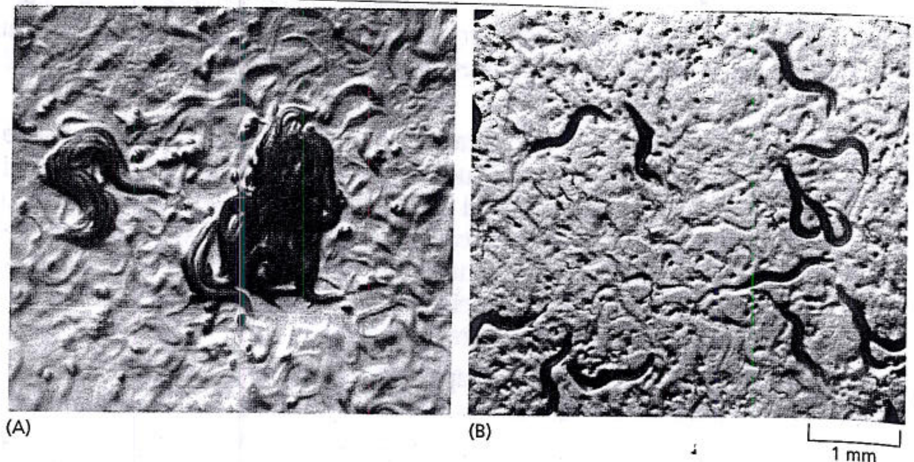


Figura 19-29. El cribado genético se puede utilizar para identificar mutaciones que afectan el comportamiento de un animal. (A) *C. elegans* de tipo silvestre adopta una forma de alimentación social. Estos gusanos planos nadan hasta encontrar a sus vecinos y sólo entonces comienzan a alimentarse. (B) Los gusanos mutantes se alimentan solos. (Cortesía de Cornelia Bargmann, tapa de *Cell* 94, 1988. Con autorización de Elsevier).

PREGUNTA 19-4

Cuando dos individuos de subpoblaciones endogámicas aisladas, diferentes, de una especie se reúne y se aparean, sus descendientes suele mostrar "energía híbrida": es decir, parecen más robustos, saludables y fértiles que cada uno de los progenitores. ¿Puede sugerir una explicación para este fenómeno?

En el tipo más simple de prueba de complementación, se cruza un individuo homocigoto recesivo para una mutación –es decir, que tiene dos alelos idénticos del gen mutante– con un individuo homocigoto para la otra mutación. Si ambas mutaciones están en el mismo gen, la descendencia tendrá el fenotipo mutante, ya que tienen sólo copias defectuosas del gen en cuestión (véase Lámina 19-1, p. 674). En cambio, si las mutaciones están en genes diferentes, la descendencia tendrá el fenotipo normal de tipo silvestre, porque tendrá una copia normal (y una copia mutante) de cada gen.

Cuando una prueba de este tipo restablece el fenotipo normal, se dice que los pares de alelos heredados de los dos progenitores *se complementan* entre sí (Fig. 19-30). Las pruebas de complementación de mutantes identificados en cribados genéticos revelaron, por ejemplo, que las levaduras requieren 5 genes para digerir el azúcar galactosa; que *E. coli* necesita 20 genes para formar un flagelo funcional; y que el desarrollo de un nematodo adulto a partir del cigoto requiere muchos cientos de genes.

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) sirven como reparos para el mapeo genético

Gracias a la reciente determinación de la secuencia completa del genoma humano, ahora se puede estudiar la genética humana de una manera que era imposible hace sólo unos pocos años. Utilizando la secuencia del genoma humano como punto inicial, se puede comenzar a identificar directamente, por secuenciación génica, las diferencias del DNA que distinguen a un individuo de otro.

No hay dos seres humanos (excepto los gemelos idénticos) que tengan el mismo genoma. Cada uno de nosotros tiene un conjunto de variaciones de la secuencia nucleotídica que nos hace únicos. En algunos sitios del genoma, estas variaciones son comunes y relativamente inocuas, de manera que hay una alta probabilidad de que dos personas cualesquiera elegidas al azar difieran en esa posición. En estos casos, en los que coexisten dos o más variantes de secuencia y ambas son frecuentes, las variantes se denominan **polimorfismos**. Algunos de estos polimorfismos corresponde a deleciones o inserciones de grandes fragmentos de secuencia de DNA, pero el tipo más común de variación se debe a la sustitución de un solo nucleótido.

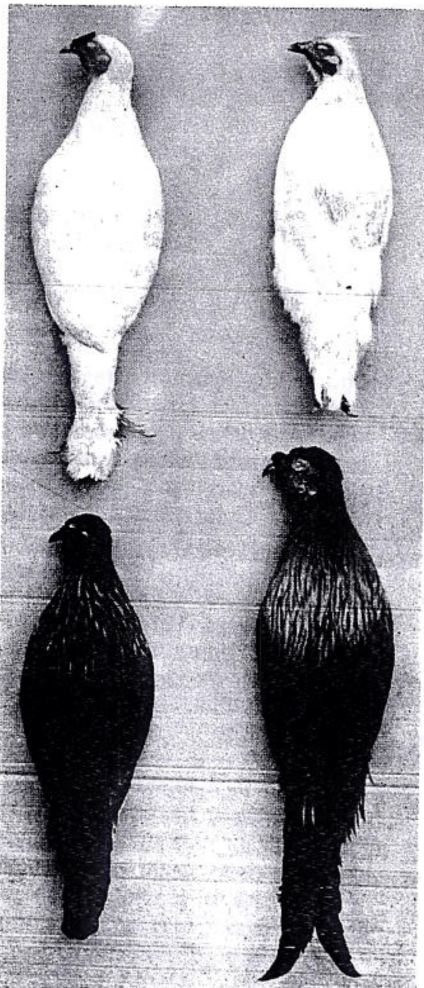


Figura 19-30. Una prueba de complementación revela que dos genes diferentes pueden ser responsables del mismo fenotipo. En esta cruza, una gallina de la raza Recessive White (izquierda superior) se aparea con un gallo de la raza Silky (no mostrado), que también es blanco. La descendencia resultante (mostrada en la parte inferior) tiene coloración normal, lo que implica que las dos razas blancas lo son debido a mutaciones de diferentes genes. En la parte superior derecha, se muestra una gallina de la raza Silky. (De W. Bateson, *Mendel's Principles of Heredity*, 1.ª ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1913. Con autorización de Cambridge University Press).

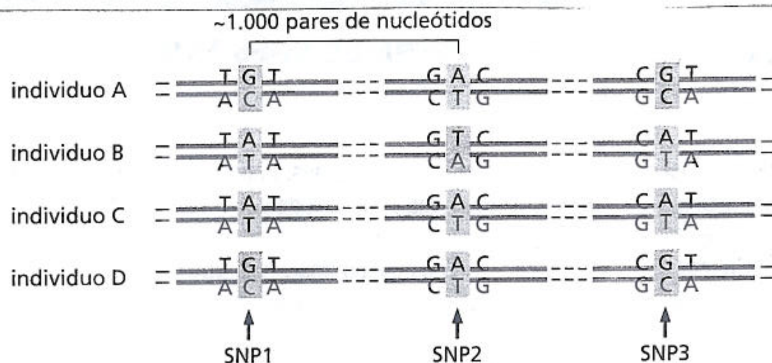


Figura 19-31. Los polimorfismos de un solo nucleótico (SNP) son sitios del genoma donde dos o más variaciones alternativas de un nucleótido son comunes en la población. La mayoría de estas variaciones del genoma humano se localizan donde no afectan de manera significativa la función de un gen.

Por lo general, dos seres humanos cualesquiera difieren en alrededor del 0,1% de sus secuencias nucleotídicas (aproximadamente, una diferencia de un nucleótido por cada 1.000). Esto se traduce en alrededor de 3 millones de diferencias de un solo nucleótido entre una persona y otra. Estos **polimorfismos de un solo nucleótido**, o **SNP** (Fig. 19-31), se pueden utilizar como marcadores para realizar mapas genéticos o para buscar mutaciones que se correlacionan con enfermedades específicas o con predisposiciones a enfermedades. La lámina Biología experimental de las páginas 680-681 explica los diferentes usos de los SNP para este último propósito. Las mutaciones que dan origen de manera regular y reproducible a anormalidades raras pero claramente definidas, como albinismo o sordera congénita, a menudo se pueden identificar por estudios familiares. Las enfermedades más comunes con causas más complejas, por ejemplo diabetes o artritis, exigen un enfoque diferente. En estos cuadros, no hay un solo gen que sea de importancia esencial; en cambio, hay muchos genes, así como factores ambientales, que inciden en el riesgo. Sin embargo, con la ayuda del análisis de SNP, se está volviendo posible rastrear estos genes.

Con este fin, los investigadores recolectan DNA de una gran cantidad de personas que presentan la enfermedad y comparan esas muestran con DNA de un grupo paralelo sin la enfermedad. Por ejemplo, suponga que un alelo o un gen particular confiere un riesgo más alto de ataque cardíaco. Es probable que los individuos que heredan ese alelo también hereden una serie de SNP genéticamente ligados a él. Así, los SNP que son excepcionalmente frecuentes en los pacientes que sufren ataque cardíaco sirven como indicadores de que un alelo riesgoso de un gen tiene una localización cercana en el genoma (Fig. 19-32).

Este enfoque se utilizó para investigar los genes que inciden en la susceptibilidad a enfermedades humanas comunes, como diabetes, enfermedad coronaria, artri-

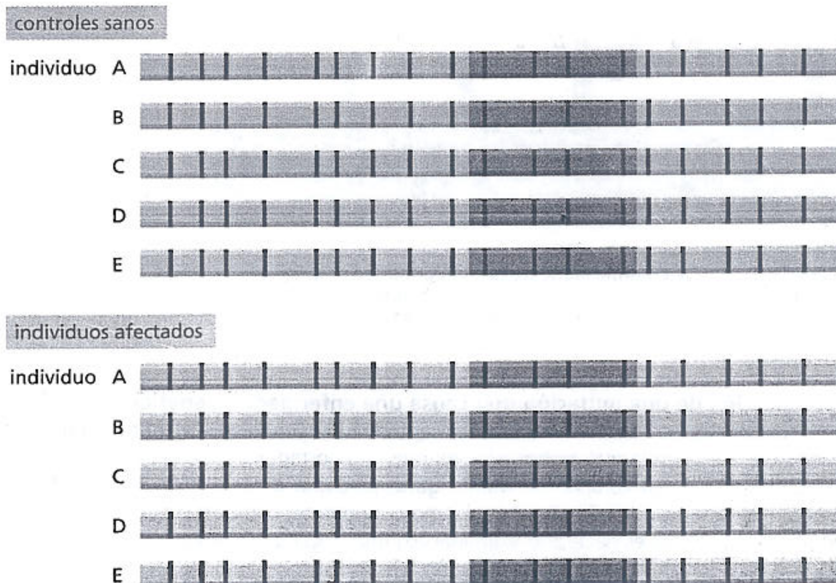


Figura 19-32. Los genes que inciden en la propensión a enfermedades comunes pueden ser localizados mediante ligamiento con SNP. Aquí, se comparan los patrones de SNP entre dos grupos de individuos: un grupo de controles sanos y un grupo afectado por una enfermedad común particular. Se muestra un segmento de un cromosoma típico. En la mayoría de los sitios polimórficos de esa región, es una cuestión aleatoria si un individuo tiene una variante de SNP (*rojo*) u otra (*azul*); y la misma aleatoriedad se observa en el grupo control y en el de individuos afectados. En cambio, en la parte del cromosoma sombreada en *gris más oscuro*, se observa un sesgo, de manera que la mayoría de los individuos normales tienen las variantes *azules* de SNP, mientras que la mayoría de los individuos afectados tienen las variantes rojas de SNP. Esto indica con firmeza que la región contiene un gen que está genéticamente vinculado con estas variantes *rojas* de SNP o que está cerca de éste, y que predispone a la enfermedad. Con controles cuidadosamente seleccionados y grandes números (miles) de individuos, esta técnica se puede usar para localizar genes relacionados con enfermedades aun cuando sus alelos comunes (variantes de SNP) confieran sólo un riesgo ligeramente diferentes de contraer una enfermedad dada.

UTILIZACIÓN DE LOS SNP PARA ESCLARECER ENFERMEDADES HUMANAS

En el caso de enfermedades que tienen sus raíces en la genética, hallar el gen responsable puede ser el primer paso hacia un mejor diagnóstico e, incluso, una cura. La tarea no es simple, pero acceder a los SNP puede ser una ayuda. En 1999, un grupo internacional de científicos comenzó a recolectar y catalogar 300.000 SNP, los polimorfismos de un solo nucleótido que son comunes en la población humana (véase Fig. 19-31). En la actualidad, la base de datos ha crecido hasta más de 10 millones de SNP diferentes. Estos SNP no sólo ayudan a definir las diferencias entre un individuo y otro, sino que también sirven para los genetistas como señales que pueden indicar el camino hacia genes involucrados en trastornos humanos comunes, como diabetes, obesidad, asma, artritis e, incluso, litiasis biliar y síndrome de las piernas inquietas.

Confección de un mapa

Un modo en que los SNP han facilitado la investigación de los genes de enfermedades es con el aporte de los marcadores físicos necesarios para construir mapas de ligamento genético detallados. Un mapa de ligamento genético revela las localizaciones relativas de un grupo de genes. Estos mapas se basan en la frecuencia de herencia conjunta de dos alelos, lo que se puede descubrir observando la frecuencia con que los rasgos fenotípicos asociados con esos alelos aparecen juntos en un individuo. Los genes próximos entre sí en el mismo cromosoma se heredarán juntos mucho más a menudo que los que están más separados. La distancia relativa entre dos genes se puede calcular determinando la frecuencia con la que son separados por recombinación (véase lámina 19-1, p. 674).

Se puede recurrir al mismo tipo de análisis para descubrir ligamiento entre un SNP y un gen. Sólo se investiga herencia conjunta de una variante de SNP (detectada por análisis de secuencia del DNA) y un alelo del gen (detectado por el rasgo fenotípico al que da origen). El hallazgo de ligamiento indica que el gen debe estar próximo al SNP (Fig. 19-33). Y como se conoce la localización exacta de cada SNP que se examina, el ligamiento puede informar sobre la zona en la que el gen reside físicamente. Después, un análisis más detallado de esa región –para investigar deleciones, inserciones u otras anormalidades de la secuencia del DNA de los individuos afectados, significativa desde el punto de vista funcional– puede permitir la identificación precisa del gen crítico.

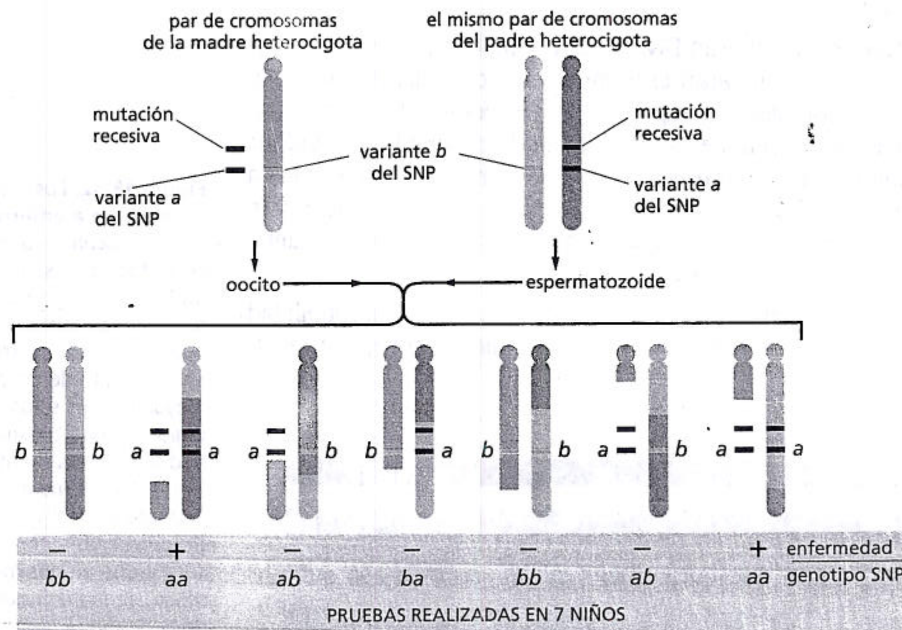


Figura 19-33. El análisis de SNP puede precisar la localización de una mutación que causa una enfermedad genética. En este procedimiento, se estudia la herencia conjunta de un fenotipo humano específico (en este caso, una enfermedad genética) con un grupo de variantes de SNP. La figura muestra la lógica del caso común de una familia en la que ambos progenitores son portadores de una mutación recesiva. Si los individuos que presentan la enfermedad, y sólo esos individuos, casi siempre son homocigotos para una variante particular del SNP, es probable que éste y la mutación recesiva que provoca la enfermedad estén próximos en el mismo cromosoma, como se ilustra aquí. Para probar que un aparente ligamiento es estadísticamente significativo, a veces es necesario examinar algunas docenas de individuos de estas familias. Con más individuos y utilizando más SNP, es posible localizar con más precisión la mutación.

Por lo general, estos análisis de ligamiento se llevan a cabo en familias particularmente proclives a un trastorno y cuanto más grande sea la familia, mejor. El método actúa de manera óptima en los casos en que hay una relación causa-efecto, de modo que una mutación particular determina directamente y fiablemente si un miembro de la familia presentará el trastorno o no. Pero los trastornos más comunes no son de este tipo: muchos factores inciden en el riesgo de enfermedad, algunos sólo como una cuestión de azar. En estos casos, se requiere un enfoque diferente.

Asociaciones

Los *estudios de asociación genética* permiten descubrir variantes genéticas comunes que influyen en el riesgo de una enfermedad frecuente, aun si cada variante modifica ligeramente la susceptibilidad. Como es probable que las mutaciones que destruyen la actividad de un gen clave tengan un efecto desastroso sobre la aptitud del individuo mutante, tienden a ser eliminadas de la población por selección natural y, por ende, rara vez se observan. Por el contrario, las variantes genéticas que introducen ligeras modificaciones en la función de un gen son mucho más frecuentes. Si se recurre a estudios de asociación genética para pesquisar estos cambios pequeños pero comunes, se pueden descubrir genes que desempeñan papeles clave en la biología de las enfermedades comunes.

Los estudios de asociación genética comparan directamente las secuencias de DNA de dos poblaciones: los individuos que presentan una determinada enfermedad y los que no. Después, buscan marcadores genéticos, como variantes de SNP, que estén presentes en los individuos con la enfermedad con más frecuencia de la que sería esperable por azar. Esas variantes de SNP pueden, por sí mismas, causar la mayor probabilidad de enfermedad o pueden estar vinculadas con otro polimorfismo o mutación que provoca el efecto.

Tomemos por ejemplo, el caso de la degeneración macular relacionada con la edad (AMD, *age-related macular degeneration*), un trastorno degenerativo que es una causa importante de ceguera en los ancianos. Para investigar las variaciones genéticas asociadas con AMD, los investigadores estudiaron un panel de más de 100.000 SNP que abarcaban todo el genoma. Determinaron la secuencia de cada uno de estos SNP en 96 personas con AMD y en 50 sin AMD. Entre los 100.000 SNP, descubrieron una variante particular que estaba presente con una frecuencia significativamente mayor en los individuos con la enfermedad (Fig. 19-34).

El SNP se localiza en un gen denominado *Cfh* (*factor H del complemento*). Pero cae dentro de uno de los intrones del gen y parece improbable que ejerza algún efecto sobre el producto proteico. Por lo tanto, no parecía probable que fuera la causa del cambio de susceptibilidad a la enfermedad. Pero orientó la atención de los investigadores al gen *Cfh*. Por lo tanto, volvieron a secuenciar la región para investigar otros polimorfismos que también podrían heredar más a menudo los individuos con

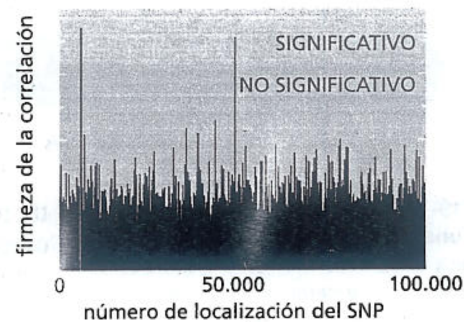


Figura 19-34. Los estudios de asociación genética identifican variaciones del DNA que son significativamente más frecuentes en individuos con una enfermedad dada. En este estudio, los científicos examinaron más de 100.000 SNP diferentes en 146 personas. El eje x del gráfico muestra la posición relativa de cada SNP en el genoma, a partir de la izquierda con los SNP del cromosoma 1. El eje y muestra la firmeza de correlación observada de cada SNP con AMD. La región *azul* indica un nivel límite de significación que corresponde a una probabilidad de menos del 5% de hallar esa firmeza de correlación por azar puro en cualquier lugar de todo el grupo de 100.000 SNP investigados. El SNP marcado en *rojo* es el que indicó el camino al gen *Cfh*. La asociación de los otros SNP prominentes con la enfermedad desapareció cuando se practicó secuenciación adicional en ese sitio, lo que reveló probables errores en la genotipificación original. (Adaptado de R. J. Klein et al., *Science* 308:385-389, 2005. Con autorización de AAAS).

AMD, junto con el SNP que ya habían identificado. Descubrieron tres variantes que determinaban un cambio de la secuencia de aminoácidos de la proteína Cfh. Uno de esos alelos, que sustituía una tirosina por una histidina en un lugar particular de la proteína, mostraba una firme asociación con la enfermedad (y casi siempre se acoplaba con la variante original del SNP que había dado la pista a los investigadores sobre el gen *Cfh*). Los individuos que tenían dos copias de este alelo riesgoso tenían una probabilidad de cinco a siete veces mayor de presentar AMD que aquellos que albergaban un alelo diferente en este sitio.

Otros grupos de investigadores, que aplicaron un enfoque de asociación genética similar, también han señalado qué variantes de *Cfh* aumentan la probabilidad de AMD, lo que casi certifica que este gen interviene en la enfermedad. Cfh forma parte del sistema del complemento, que ayuda a mediar la inmunidad y la inflamación. La proteína normal frena el sistema del complemento, lo que impide que se torne hiperactivo. Interesa destacar que los factores de riesgo ambientales asociados con la enfermedad –tabaquismo, obesidad y edad– inciden en la actividad del complemento. Así, cualquiera que sea el mecanismo detallado por el cual el gen *Cfh* influye en el riesgo de AMD, el hallazgo de que el complemento es crucial podría llevar a desarrollar nuevas pruebas para el diagnóstico precoz del trastorno, así como posibles nuevas vías de tratamiento.

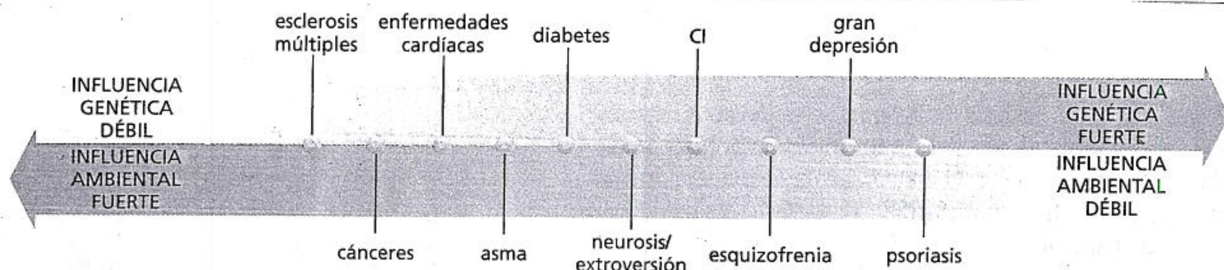


Figura 19-35. Algunos rasgos humanos tienen una fuerte influencia ambiental y otros una influencia menor. Los estudios de gemelos idénticos y gemelos fraternales han indicado las contribuciones genéticas y ambientales relativas a los distintos rasgos humanos.

tis reumatoidea, enfermedad bipolar (enfermedad maníaco-depresiva) y varias otras. En todos estos trastornos, los factores ambientales, así como los factores genéticos, desempeñan un papel importante (Fig. 19-35). Además, en muchos de ellos, los propios factores genéticos son complejos: no hay un solo gen, sino muchos, que contribuyen a la incidencia de cada enfermedad. El rastreo de los genes involucrados –y de los polimorfismos asociados con la enfermedad– permiten no sólo identificar y ayudar a las personas que presentan mayor riesgo, sino también descubrir más acerca de los mecanismos moleculares de los trastornos.

Grupos ligados de SNP definen bloques de haplotipo

Por supuesto, cuando más SNP hay que analizar para rastrear la localización de un gen, más costosa y laboriosa es la empresa. Por fortuna, a los fines del mapeo genético, no es necesario examinar los 3 millones de SNP del genoma humano. Esto se debe a que no todos los SNP son independientes: están ligados a sus vecinos más próximos en bloques –denominados **bloques de haplotipo**– que tienden a heredarse como una unidad. Así, es muy probable que los individuos portadores de una variante particular de un sitio polimórfico tengan variantes correlacionadas en todos los sitios polimórficos vecinos dentro de ese bloque de haplotipo (Fig. 19-36). Por lo tanto, es suficiente examinar uno o dos SNP representativos de cada bloque de haplotipo.

Para entender por qué existen los bloques de haplotipo, se debe considerar nuestra historia evolutiva. Se considera que los seres humanos modernos se expandieron a partir de una población bastante pequeña que existió en África hace alrededor de 60.000 años. Entre el pequeño grupo de ancestros de los que descendemos, algunos individuos habrán tenido un conjunto de variantes genéticas, y otros, un conjunto diferente. Los cromosomas de un ser humano actual representan una combinación de fragmentos de los cromosomas de diferentes miembros de este pequeño grupo ancestral de individuos. Como sólo nos separan alrededor de dos mil generaciones de la población ancestral, grandes segmentos de estos cromosomas humanos ancestrales han pasado de padres a hijos sin fragmentarse por los fenómenos de entrecruzamiento que se producen durante la meiosis. (Recuerde que sólo se producen unos pocos entrecruzamientos por meiosis en

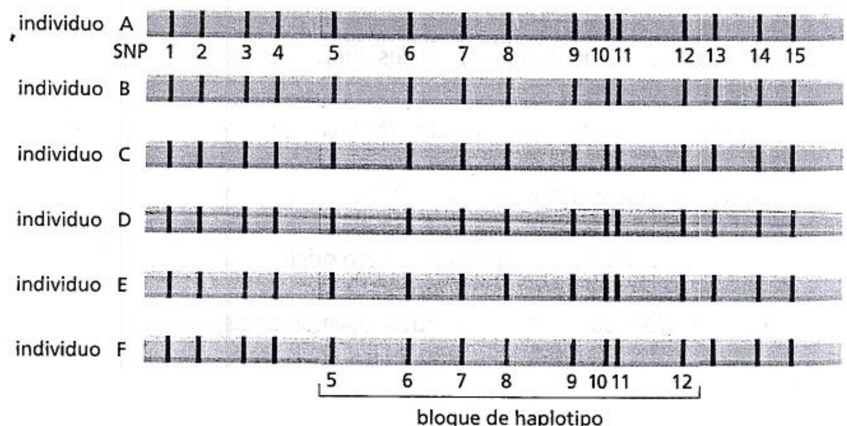


Figura 19-36. Los SNP se suelen heredar en grandes bloques. Se destacan en color 15 nucleótidos en los que hay polimorfismo. Por ejemplo, en el sitio rotulado SNP1, parte de la población podría tener una A (*azul*), otra porción podría tener una G (*rojo*). Diferentes personas heredan distintos conjuntos de variantes, pero los SNP 5-12 se suelen heredar como un bloque. Es decir, si un cromosoma contiene la forma variante *roja* de cualquiera de los SNP de este bloque, contendrá la forma variante *roja* de todos ellos, y si contiene la forma variante *azul* de uno, contendrá la variante *azul* de todos.

cada cromosoma humano). En consecuencia, ciertos grupos de alelos –y marcadores de DNA como SNP– se heredan en bloques ligados. Estos segmentos cromosómicos ancestrales –conjuntos de alelos y marcadores que se han heredados juntos con escaso reordenamiento genético a lo largo de generaciones– son los bloques de haplotipo. Al igual que los genes y los marcadores genéticos –que existen en diversas formas alélicas– los bloques de haplotipo también tienen un número limitado de variantes que son comunes en la población humana, y cada una de ellas representa una combinación de alelos transmitida hace mucho tiempo por un antepasado común.

Los bloques de haplotipo aportan indicios de nuestra historia evolutiva

Un examen detallado de los bloques de haplotipo puede aportar algunos conocimientos notables sobre la historia de las poblaciones humanas. Hay una generación continua de nuevos alelos por mutación; muchas de estas variantes serán selectivamente neutras –es decir, no influirán en el éxito reproductivo del individuo– y, por lo tanto, tienen una probabilidad de volverse comunes en la población. Cuanto más tiempo haya transcurrido desde el origen de un alelo, más pequeño será el bloque de haplotipo que lo rodea, porque a lo largo de muchas generaciones, los fenómenos de entrecruzamiento habrán tenido muchas oportunidades de separar el alelo de los SNP cercanos. De hecho, al comparar los tamaños de los bloques de haplotipos de diferentes poblaciones humanas, es posible estimar cuántas generaciones han pasado desde el origen de un mutación específica. De esta manera, la combinación de comparaciones genéticas con arqueología permite rastrear nuestra historia a partir de ese pequeño grupo de ancestros africanos e, incluso, deducir las rutas más probables que siguieron nuestros ancestros cuando abandonaron el continente (**Fig. 19-37**).

Los alelos neutros desde el punto de vista selectivo tardan mucho tiempo en establecerse en una población, pero un alelo que es firmemente favorecido por la selección natural se difundirá en la población y alcanzará con rapidez una alta frecuencia. Por ejemplo, una mutación o variación que torna a un organismo más resistente a una infección será favorecido por la selección, porque los organismos con esta variación tendrán más probabilidad de sobrevivir y transmitir la mutación a su descendencia. También en este caso, se puede recurrir al análisis de haplotipo para estimar cuándo se produjeron estos eventos genéticos históricos. Si una mutación favorable surgió en la población en forma relativamente reciente, habrá menos oportunidades de que la recombinación fragmente el área que la rodea, de manera que el bloque de haplotipo circundante será grande. Éste es el caso de dos genes diferentes que confieren resistencia al paludismo. Los alelos que confieren resistencia están difundidos en poblaciones africanas, donde el paludismo es muy frecuente. Y están incluidos en bloques de haplotipo inusualmente grandes, lo que sugiere que estas variantes protectoras aumentaron hace poco en la reserva génica africana, probablemente alrededor de 2.500 años atrás

PREGUNTA 19-5

En un análisis automatizado reciente, se estudiaron miles de SNP de todo el genoma en muestras combinadas de DNA de seres humanos que habían sido divididos en grupos según su edad. En la gran mayoría de estos sitios, no había ningún cambio de la frecuencia relativa de diferentes variantes a medida que aumentaba la edad. Sin embargo, en casos raros, la frecuencia de una variante en particular en una posición disminuía progresivamente en personas mayores de 50 años. ¿Cuál de las siguientes explicaciones parece la más probable?

A. El nucleótido de ese SNP en esa posición es inestable y muta con la edad.
B. Esas personas nacidas hace más de 50 años provenían de una población que tendía a carecer de la variante del SNP en vías de desaparición.
C. La variante del SNP altera un producto génico importante de un modo que acorta la expectativa de vida del ser humano o está ligado a un alelo vecino que ejerce este efecto.

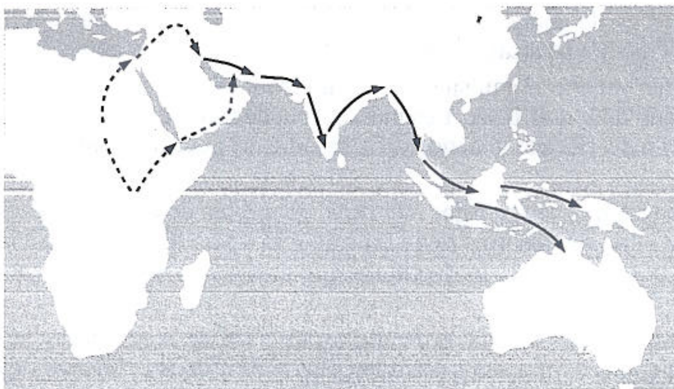


Figura 19-30. **Las poblaciones humanas que, en la actualidad, están dispersas por el mundo se originaron en África hace alrededor de 60.000 a 80.000 años.** El mapa muestra las rutas que se considera que siguieron las primeras migraciones exitosas. Las líneas de puntos indican dos rutas alternativas que se pueden haber tomado para salir de África. Los estudios del tamaño de los bloques de haplotipo indican que los europeos modernos descienden de un pequeño grupo de ancestros (una 'población en cuello de botella') de hace alrededor de 30.000 a 50.000 años. Los bloques haplotipo de una población nigeriana son significativamente más pequeños, lo que indica que esa población se estableció hace más tiempo. Estos hallazgos coinciden con hallazgos arqueológicos, que señalan que los ancestros de los nativos de Australia modernos (flechas *rojas llenas*) –y de las poblaciones modernas de Europa y Oriente Próximo (rutas de migración no mostradas)– alcanzaron sus destinos hace aproximadamente 45.000 años. (Modificado de P. Forster y S. Matsumura, *Science* 308:965-966, 2005. Con autorización de la AAAS).

en uno de ellos y alrededor de 6.500 años atrás en el otro. De esta manera, el análisis de genomas humanos modernos puede descubrir la historia antigua de la exposición del hombre a determinadas infecciones y del desarrollo de resistencia a ellas.

Al revelar las vías de evolución de los seres humanos, el mapa de haplotipos humanos y de SNP aporta una nueva ventana a nuestro pasado; al ayudar a descubrir los genes que nos vuelven susceptibles o resistentes a la enfermedad, el mapa también nos puede mostrar nuevas maneras de sobreponernos a nuestros problemas médicos actuales.

CONCEPTOS ESENCIALES

- La reproducción sexual implica la alternancia cíclica de estados diploides y haploides: las células diploides se dividen por meiosis y forman gametos haploides. En la fecundación, se fusionan los gametos haploides de dos individuos formando una nueva célula diploide.
- Durante la meiosis, los cromosomas materno y paterno de una célula diploide se reparten entre los gametos, de modo que cada uno recibe una copia de cada cromosoma. La distribución de los dos miembros de cada par de cromosomas es aleatoria y, por lo tanto, un mismo individuo puede producir muchos gametos genéticamente diferentes.
- El entrecruzamiento asegura la segregación correcta de los cromosomas homólogos y aumenta la redistribución genética que se produce durante la meiosis ya que permite el intercambio de genes entre los homólogos materno y paterno.
- Si bien la mayoría de las características mecánicas de la meiosis son similares a las de la mitosis, el comportamiento de los cromosomas es diferente: la meiosis produce cuatro células haploides genéticamente distintas mediante dos divisiones celulares sucesivas, mientras que la mitosis produce dos células diploides genéticamente idénticas mediante una sola división celular.
- Mendel desentrañó las leyes de la herencia al estudiar la transmisión de algunos rasgos separados en plantas de guisantes.
- La ley de la segregación de Mendel afirma que los alelos materno y paterno para cada rasgo se separan durante la formación de los gametos y, luego, se reúnen al azar durante la fecundación.
- La ley de la distribución independiente de Mendel afirma que, durante la formación de los gametos, los distintos alelos se segregan en forma independiente uno del otro.
- El comportamiento de los cromosomas durante la meiosis explica las leyes de Mendel.
- Si dos genes están cerca uno del otro en un cromosoma, tienden a heredarse como una unidad. La frecuencia de recombinación entre ellos se puede utilizar para construir un mapa genético en el que se muestra el orden de los genes en un cromosoma.
- Los alelos mutantes pueden ser dominantes o recesivos. Si el organismo heterocigoto tiene el fenotipo mutante, el alelo mutante es dominante; si tiene el fenotipo normal, el alelo mutante es recesivo.
- Las pruebas de complementación revelan si dos mutaciones que producen el mismo fenotipo se localizan en el mismo o en diferentes genes.
- Se pueden generar organismos mutantes tratando animales con sustancias químicas que dañan al DNA. Después, se pueden identificar fenotipos de interés por medio del cribado genético y, finalmente, se pueden aislar los genes responsables.
- Con excepción de los gemelos idénticos, no existen dos genomas humanos iguales. Cada uno de nosotros tiene un conjunto único de polimorfismos –variaciones de la secuencia de nucleótidos– que modela nuestros fenotipos individuales.
- Los polimorfismos son sitios de alta variabilidad de la secuencia del genoma, de manera que dos individuos seleccionados al azar de la población tienen una alta probabilidad de ser diferentes en esos sitios.

- Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son polimorfismos donde la variabilidad reside en la elección de un solo nucleótido, y dos o más variantes son comunes en la población. Los SNP representan marcadores útiles para el mapeo genético.
- Los SNP humanos tienden a heredarse en grandes bloques de haplotipo, segmentos del genoma que se han transmitido intactos desde nuestros ancestros lejanos y que, en la mayoría de los individuos, aún no han sido fragmentados por recombinación meiótica. Los tamaños de los bloques de haplotipo aportan indicios sobre nuestra historia evolutiva.

PALABRAS CLAVE

alelo
apareamiento
bivalente
bloque de haplotipo
célula germinal
célula somática
cigoto
cribado genético
cromátida hermana
cromosoma homólogo
cromosoma sexual
diploide
entrecruzamiento
fecundación
fenotipo
gameto
genealogía
genética
genotipo
haploide
heterocigoto
homólogo
ley de la segregación
ley de la distribución independiente
mapa genético
meiosis
mutación de ganancia de función
polimorfismo
prueba de complementación
quiasma
rasgo complejo
recombinación
reproducción asexual
reproducción sexual
SNP (polimorfismo de un solo nucleótido)

PREGUNTAS

PREGUNTA 19-6

Es fácil observar cómo son eliminadas por selección natural las mutaciones deletéreas de las bacterias, que tienen una sola copia de cada gen: las bacterias afectadas mueren, y por ende, la mutación se pierde de la población. En cambio, los eucariontes tienen dos copias de la mayoría de los genes, es decir, son diploides. A menudo, un individuo con dos copias normales del gen (homocigoto normal) es indistinguible fenotípicamente de un individuo con una copia normal y una copia defectuosa del gen (heterocigoto). En estos casos, la selección natural puede operar sólo contra un individuo con dos copias defectuosas del gen (homocigoto defectuoso). Considere la situación en la que una forma defectuosa del gen es letal cuando se es homocigoto, pero no tiene efecto en un heterocigoto. ¿Se puede eliminar alguna vez una mutación de este tipo de una población por selección natural? ¿Por qué sí o por qué no?

PREGUNTA 19-7

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Fundamente sus respuestas.

A. El espermatozoide y el óvulo de los animales contienen genomas haploides.

B. Durante la meiosis, los cromosomas se asignan de manera tal que cada célula germinal obtiene una sola copia de cada uno de los distintos cromosomas.

C. Las mutaciones que se producen durante la meiosis no se transmiten a la siguiente generación.

PREGUNTA 19-8

¿Qué podría causar la disyunción de cromosomas, en la que una célula hija recibe dos copias del mismo cromosoma? ¿Cuáles podrían ser las consecuencias de este fenómeno en (a) la mitosis y en (b) la meiosis?

PREGUNTA 19-9

¿Por qué las cromátidas hermanas deben permanecer apareadas durante la división I de la meiosis? ¿La respuesta le sugiere alguna estrategia para lavar las medias?

PREGUNTA 19-10

Distinga entre los siguientes términos:

A. Gen y alelo.

B. Homocigoto y heterocigoto.

C. Genotipo y fenotipo.

D. Dominante y recesivo.

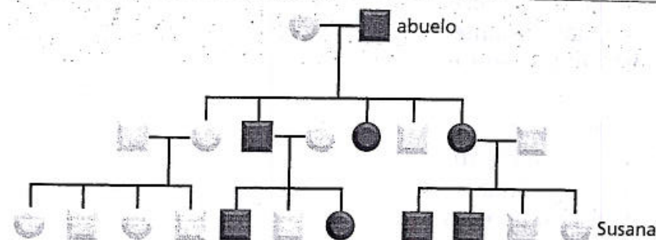


Figura P19-12.

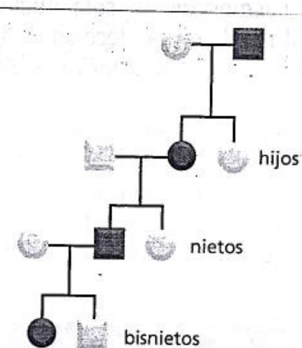


Figura P19-14.

PREGUNTA 19-11

Usted recibe tres guisantes de superficie rugosa, que llamaremos A, B y C, y que siembra para obtener una planta de guisantes madura. Al autopolinizarse, cada una de estas tres plantas produce solo guisantes rugosos.

A. Como usted sabe que el fenotipo de guisantes rugosos es recesivo, como consecuencia de una mutación de pérdida de función, ¿qué puede decir acerca del genotipo de cada planta?

B. ¿Podría concluir con seguridad que cada una de las tres plantas tiene una mutación en el mismo gen?

C. En caso de no ser así, ¿cómo podría descartar la posibilidad de que cada planta tenga una mutación en un gen diferente, cada uno de los cuales determina el fenotipo de guisante rugoso?

PREGUNTA 19-12

El abuelo de Susana era sordo y transmitió una forma hereditaria de sordera en la familia de Susana según muestra la figura P19-12.

A. ¿Lo más probable es que esta mutación sea dominante o recesiva?

B. ¿La mutación se encuentra en un cromosoma autosómico o en un cromosoma sexual? ¿Por qué?

C. Se ha realizado un análisis completo de SNP a los 11 nietos (4 afectados por la enfermedad y 7 no). Al comparar estos 11 resultados de SNP, ¿qué longitud cree usted que podría tener el bloque de haplotipo alrededor del gen crítico? ¿Cómo lo detectaría?

PREGUNTA 19-13

Como la mutación que provoca sordera en la familia mostrada en la figura 19-22 es muy rara, ¿cuál es el genotipo más probable de cada uno de los cuatro hijos de la generación II?

PREGUNTA 19-14

En la genealogía que se muestra en la figura P19-14, el primer hijo nacido en cada una de las tres generaciones es el único afectado por una enfermedad hereditaria genéticamente dominante, D. Su amigo llega a la conclusión de que el primogénito tiene mayor probabilidad de heredar el alelo *D* mutante que el resto de los hijos.

A. ¿Esta conclusión es posible de acuerdo con las leyes de Mendel?

B. ¿Cuál es la probabilidad de obtener este resultado por azar?

C. ¿Qué clase de datos adicionales necesitaría para probar la idea de su amigo?

PREGUNTA 19-15

Suponga que una persona en 100 es portadora de una mutación recesiva desagradable, de manera que los bebés homocigotos para la mutación mueren poco después de nacer. En una población donde hay 1.000.000 de nacimientos por año, ¿cuántos bebés por año nacerán con la enfermedad homocigota fatal?

PREGUNTA 19-16

Ciertas mutaciones se denominan *dominantes negativas*. ¿Qué cree usted que significa esto y cómo supone que actúan estas mutaciones? Explique la diferencia entre una mutación dominante negativa y una mutación de ganancia de función.

PREGUNTA 19-17

Analice la siguiente afirmación: "Si su ausencia no se asociara con la diabetes, una enfermedad devastadora en el ser humano, no tendríamos idea de la importancia de la

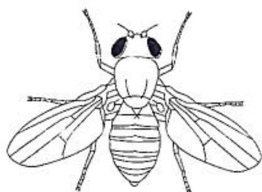
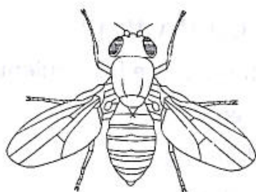
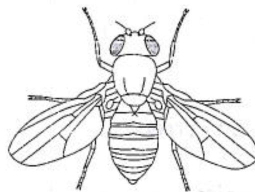
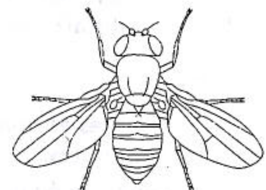





Figura P19-18.

CUADRO P19-18 ANÁLISIS DE COMPLEMENTACIÓN DE LAS MUTACIONES DEL COLOR DE OJOS DE *DROSOPHILA*

MUTACIÓN	Blanco	Granate	Rubí	Bermellón	Cereza	Coral	Albaricoque	Ante	Encarnado
Blanco	–	+	+	+	–	–	–	–	+
Granate		–	+	+	+	+	+	+	+
Rubí			–	+	+	+	+	+	+
Bermellón				–	+	+	+	+	+
Cereza					–	–	–	–	+
Coral						–	–	–	+
Albaricoque							–	–	+
Ante								–	+
Encarnado									–

+ indica que la progenie de una cruza entre individuos que presentan el color de ojos indicado son fenotípicamente normales; – indica que el color de ojos de la progenie es anormal.

insulina como hormona reguladora. Las consecuencias importantes de la carencia de insulina hicieron que se dirigieran los primeros esfuerzos a identificarla y a estudiar su papel fisiológico normal".

PREGUNTA 19-18

Los primeros estudios genéticos en *Drosophila* fueron la base de nuestro conocimiento actual de los genes. Los genetistas que trabajaron con *Drosophila* pudieron generar moscas mutantes con una variedad de cambios fenotípicos fáciles de observar. Las alteraciones del color normal rojo ladrillo de los ojos tienen una venerable historia, ya que el primer mutante que descubrió Thomas Hunt Morgan era una mosca de ojos blancos (Fig. P19-18). Desde entonces, se aisló una gran cantidad de moscas mutantes con colores de ojos intermedios, que recibieron nombres que desafían nuestro sentido del color: granate, rubí, bermellón, cereza, coral, albaricoque, ante y encarnado. Las mutaciones responsables de estos fenotipos de color de ojos son todas recesivas. Para determinar si las mutaciones afectan al mismo gen o a genes distintos, se cruzaron entre sí moscas homocigotas para cada mutación de a pares, y se observó el color de ojos de la progenie. En el cuadro P19-18, un + o un – indica el fenotipo de la progenie producida por apareamiento de la mosca mencionada en la parte superior de la columna con la mosca mencionada a la izquierda de la fila; los ojos rojo ladrillo de tipo silvestre se muestran como (+), y otros colores se indican como (-).

A. ¿Cómo es posible que moscas de dos colores de ojos distintos –p. ej., rubí y blanco– puedan dar como descendencia moscas que tienen todas ojos de color rojo ladrillo?

B. ¿Cuáles son las mutaciones que están en alelos del mismo gen y cuáles afectan a distintos genes?

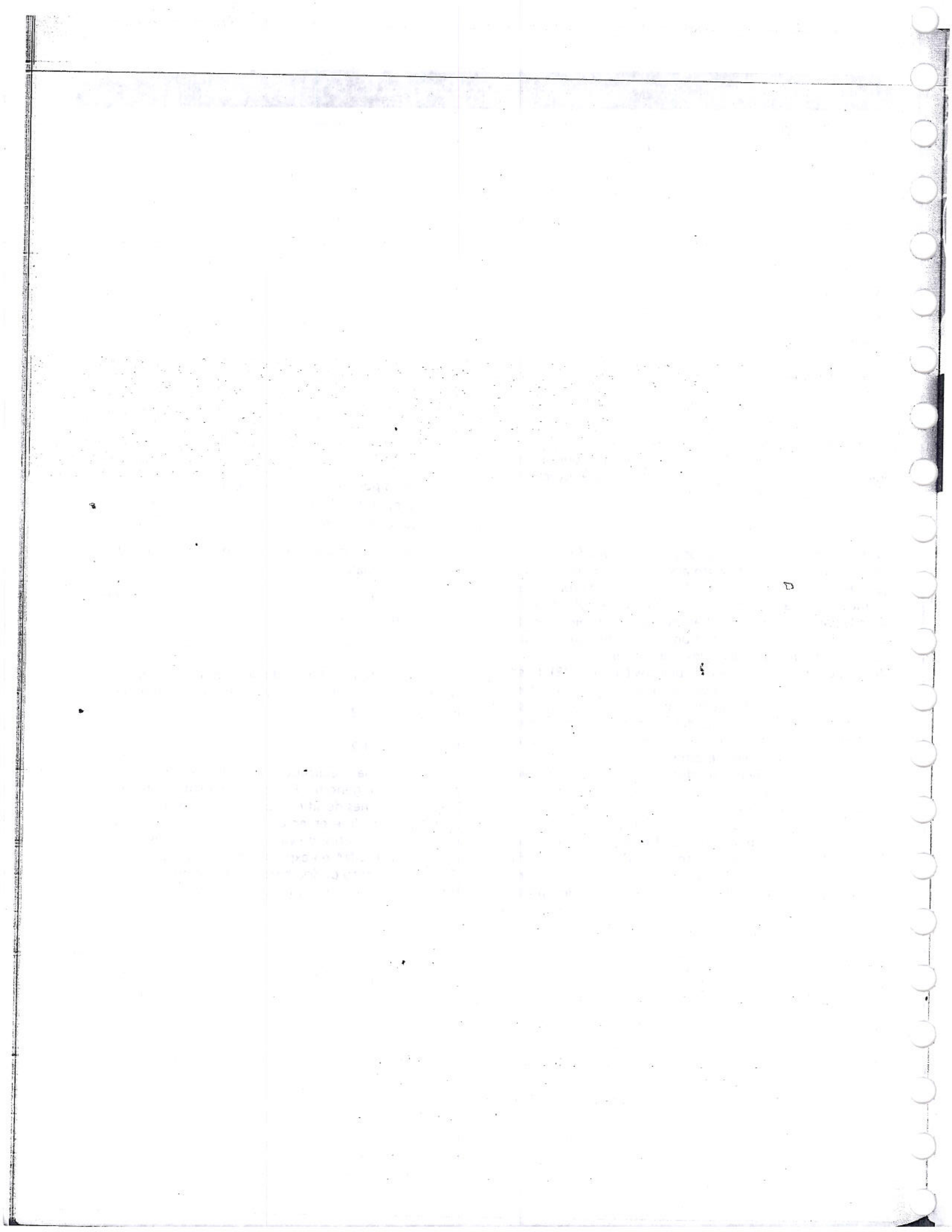
C. ¿Cómo pueden dar diferentes colores de ojos distintos alelos del mismo gen?

PREGUNTA 19-19

¿Qué son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), y cómo se pueden utilizar para localizar a un gen mutante por análisis de ligamiento?

PREGUNTA 19-20

Tim y John se han realizado un estudio de la secuencia completa de su genoma. Esto permite confeccionar una lista de 3 millones de sitios en los que las secuencias de DNA de ambos difieren en un solo nucleótido. ¿Por qué muchos de estos sitios de variación no son útiles como marcadores de DNA en experimentos de mapeo genético? ¿Qué experimento podría hacer para distinguir entre los sitios de variación útiles y los que no lo son?





CAPÍTULO **VEINTE** 20

Comunidades celulares: tejidos, células madre y cáncer

MATRIZ EXTRACELULAR Y TEJIDOS CONECTIVOS

CAPAS EPITELIALES Y UNIONES CELULARES

MANTENIMIENTO Y RENOVACIÓN DE LOS TEJIDOS

CÁNCER

Las células son los elementos estructurales que componen los organismos multicelulares. Esta afirmación parece simple pero plantea problemas importantes. Las células no son como los ladrillos: son pequeñas y blandas. Por lo tanto, ¿cómo es posible que juntas conformen una jirafa o un pino gigante de California? Cada célula está rodeada por una membrana muy delgada (mide menos de cien milésimas de milímetro de espesor) y depende de la integridad de esa membrana para sobrevivir. Entonces, ¿cómo es posible que las células se unan con firmeza, con sus membranas íntegras, y formen un músculo que soportará el peso de un elefante? Lo más misterioso de todo es que si las células son los elementos estructurales, ¿dónde está el constructor y dónde se encuentran los planos del arquitecto? ¿Cómo se producen los distintos tipos celulares en un vegetal o en un animal, cada uno en el sitio apropiado de acuerdo con un patrón elaborado (Fig. 20-1)?

La mayoría de las células de los organismos multicelulares se organizan en estructuras cooperativas denominadas **tejidos**, p. ej. los tejidos nervioso, muscular, epitelial y conectivo de los vertebrados (Fig. 20-2). En este capítulo comenzaremos con un comentario sobre la estructura de los tejidos desde un punto de vista mecánico. Veremos que los tejidos no están compuestos sólo por células con sus citoesqueletos internos de filamentos (véase capítulo 17) sino que además poseen una **matriz extracelular** que las células secretan y que se deposita alrededor de ellas; esta matriz es la que otorga resistencia a los tejidos de sostén como el hueso o la madera. Además mantiene unidas a las células, aunque éstas también pueden adherirse directamente entre sí. Por consiguiente, describiremos las *uniones celulares* que conectan las células entre sí en los tejidos flexibles y móviles de los animales y transmiten las fuerzas generadas por el citoesqueleto de una célula al de la siguiente o desde el citoesqueleto de una célula a la matriz extracelular.

La organización de los tejidos supera el aspecto mecánico. Así como un edificio necesita tuberías, líneas telefónicas y otros elementos, un tejido animal requiere vasos sanguíneos, nervios y otros componentes formados por diferentes tipos

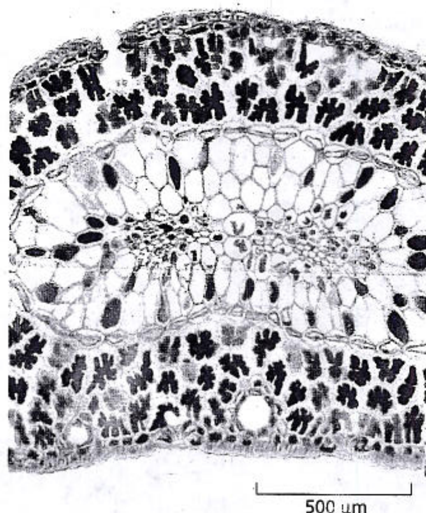


Figura 20-1. Los organismos multicelulares están compuestos por colecciones organizadas de células. El corte transversal de una hoja de pino (aguja de pino) coloreado muestra el patrón organizado en forma precisa de los distintos tipos de células.

celulares especializados. Todos los componentes tisulares tienen que estar coordinados entre sí de manera correcta y muchos de ellos requieren mantenimiento y renovación continuos. Las células mueren y deben ser reemplazadas por células nuevas apropiadas que ocupen el sitio correcto y se acumulen en las cantidades adecuadas. Consideraremos la forma de organización de estos procesos y el importante papel de las *células madre* en la renovación y la reparación de los tejidos.

Los trastornos de la renovación de los tejidos son un problema médico importante, y los que se deben a una alteración del comportamiento celular provocado por mutaciones son la base del desarrollo de *cáncer*. Esta enfermedad será el tema de la sección final del capítulo. El estudio del cáncer requiere un conocimiento sintético de todos los niveles de las células y los tejidos, desde la biología molecular de la reparación del DNA hasta los principios de la selección natural y de la organización social de las células que forman los tejidos. La investigación relacionada con el cáncer ha impulsado muchos avances fundamentales en la biología celular y, como se verá, en las ciencias básicas se ha alcanzado una comprensión profunda de la enfermedad y un optimismo renovado en relación con su tratamiento.

MATRIZ EXTRACELULAR Y TEJIDOS CONECTIVOS

La organización multicelular de los vegetales y los animales evolucionó en forma independiente y la estructura de sus tejidos se basa en principios diferentes. Los animales consumen otros seres vivos y para esto deben ser fuertes y ágiles; deben poseer tejidos capaces de permitirles un movimiento rápido y las células que forman estos tejidos deben ser capaces de generar y transmitir fuerzas y de cambiar de forma con rapidez. En cambio, los vegetales son sedentarios, sus tejidos son más o menos rígidos y sus células son débiles y frágiles si se las aísla de su estructura tisular de sostén.

La resistencia del tejido vegetal depende de las **paredes celulares**, que son estructuras similares a cajas que encierran, protegen y limitan la forma de todas las células (Fig. 20-3). La pared celular es un tipo de matriz extracelular que secreta la célula vegetal y la deposita a su alrededor. La célula controla la composición de este material: puede ser grueso y duro, como en el tronco, o delgado y flexible como en la hoja. No obstante, los principios que determinan la formación de los tejidos son los mismos en todos los casos: muchas "cajas" diminutas adheridas entre sí, con una célula delicada que vive dentro de cada una. En realidad, como se señaló en el capítulo 1, fue esta masa compacta de cámaras microscópicas detectada por Robert Hooke en una lámina de corcho hace tres siglos lo que originó el término "célula".

Los tejidos animales son más diversos. Al igual que los tejidos vegetales están compuestos por células y matriz extracelular, pero estos componentes están orga-

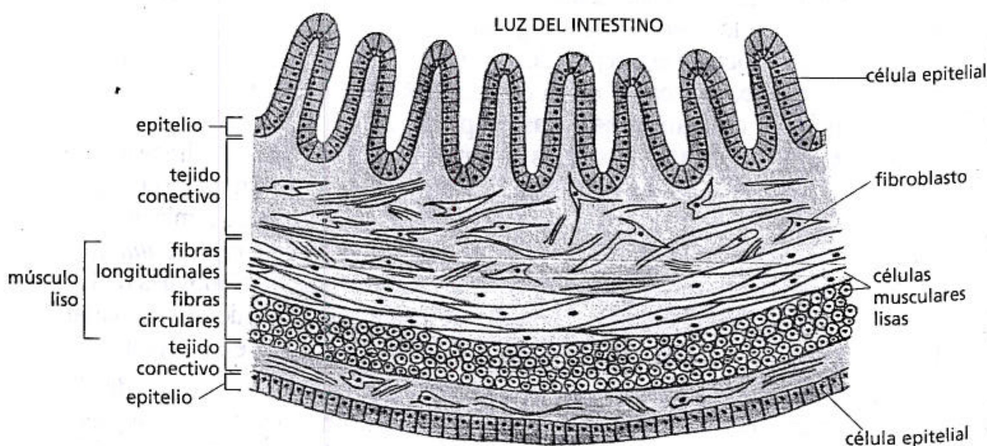


Figura 20-2. Las células se organizan en tejidos. Esquema simplificado de un corte transversal de un sector de la pared del intestino de un mamífero. Este órgano tubular largo está compuesto por tejido epitelial *(rojo)*, conectivo *(verde)* y muscular *(amarillo)*. Cada tejido es una combinación organizada de células unidas por medio de adhesiones intercelulares, matriz extracelular o ambas.

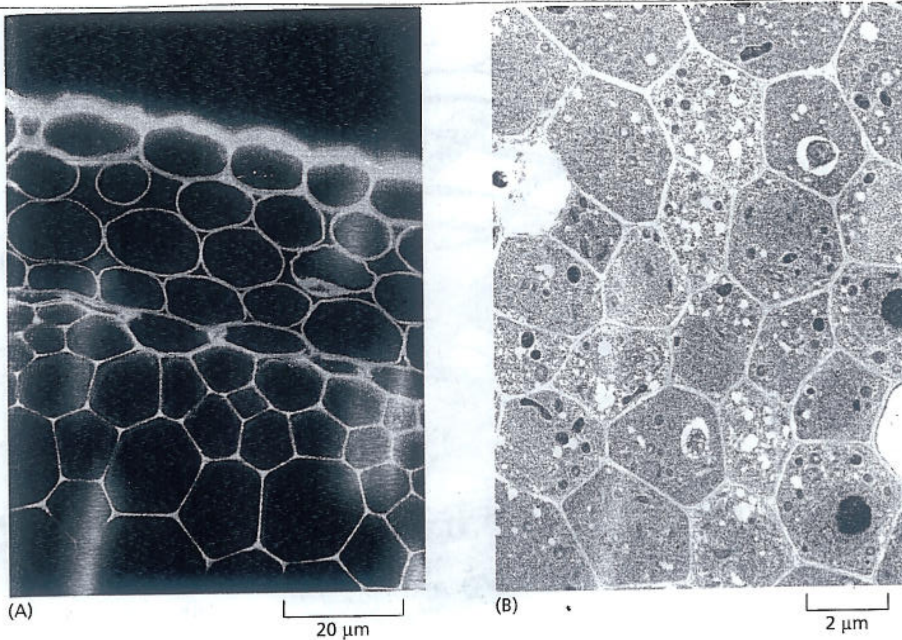


Figura 20-3. Los tejidos vegetales están reforzados por paredes celulares. (A) Se observa un corte transversal de una parte del tallo de la planta *Arabidopsis*, teñido con colorantes fluorescentes que marcan dos componentes distintos de la pared celular: celulosa de color *azul* y otro polisacárido (pectina) de color *verde*. Las células propiamente dichas no se tiñen y son invisibles en este preparado. Las regiones con alto contenido tanto en celulosa como en pectina aparecen de color *blanco*. La pectina predomina en las capas externas de las células, que sólo tienen paredes primarias (que se depositan durante el crecimiento de las células). La celulosa es más abundante en las capas internas que tienen paredes celulares secundarias más gruesas y más rígidas (que se depositan después de la finalización del crecimiento celular). (B) Las células y sus paredes se identifican con claridad en esta microfotografía electrónica de células jóvenes pertenecientes a la raíz de la misma planta. (Cortesía de Paul Linstead).

nizados de muchas maneras diferentes. En algunos tejidos, como el hueso o los tendones, la matriz extracelular es abundante y muy importante desde el punto de vista mecánico; en otros tejidos, como el músculo o la epidermis, la matriz extracelular es escasa y el citoesqueleto de las células soporta la carga mecánica. Comenzaremos con un breve comentario sobre las células y los tejidos vegetales antes de pasar a los animales.

Las células vegetales tienen paredes externas resistentes

Una célula vegetal desnuda, de la que se extrajo la pared en forma artificial, es un elemento delicado y vulnerable. Con cuidado puede mantenerse viva en cultivo, pero se rompe con facilidad e incluso un ajuste inadecuado de la resistencia osmótica del medio de cultivo puede causar su hinchazón y estallido. Su citoesqueleto carece de los filamentos intermedios que soportan tensión como los hallados en las células animales y su resistencia a la tensión es casi nula. Por lo tanto, la pared externa es indispensable para su supervivencia.

La pared de la célula vegetal es resistente, pero no necesariamente rígida. La expansión osmótica de la célula está limitada por la resistencia de la pared celular; una masa compuesta por este tipo de células tumefactas adheridas entre sí forma un tejido semirrígido (Fig. 20-4). Éste es el estado en el que encontraríamos a una hoja de lechuga hidratada. Si falta agua y las células se encogen, la hoja se marchita.

Casi todas las células recién formadas en una planta multicelular producen paredes celulares primarias relativamente delgadas que pueden expandirse con lentitud adaptándose al crecimiento celular. La fuerza que dirige el crecimiento es la misma que mantiene la hoja de lechuga hidratada, es decir, una presión de tumefacción que se denomina presión de turgencia y se desarrolla debido a la presencia de un desequilibrio osmótico entre el interior de la célula y sus alrededores (véase capítulo 12). Una vez que el crecimiento se detiene y la pared celular no necesita expandirse más se suele formar una pared secundaria más rígida, sea a través del engrosamiento de la pared primaria o del depósito de capas nuevas con una composición diferente debajo de las antiguas. Cuando las células vegetales se especializan suelen producir tipos de paredes especialmente adaptadas: cerosas e impermeables en las células epidérmicas superficiales de una hoja, duras, resistentes y leñosas en las células del xilema del tallo y así sucesivamente.

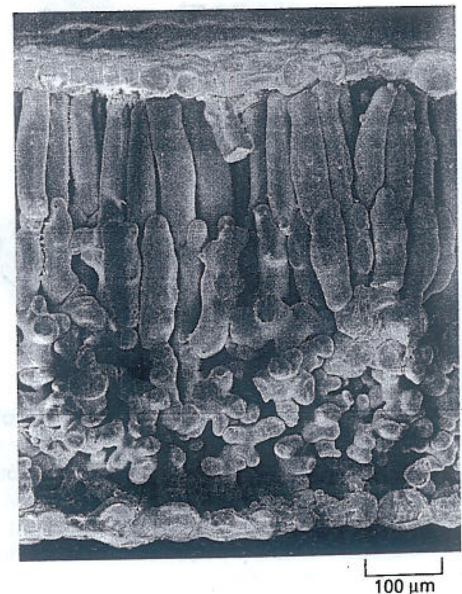


Figura 20-4. Microfotografía electrónica de barrido que muestra las células en una hoja de lechuga hidratada. Las células, tumefactas por las fuerzas osmóticas, están unidas por sus paredes. (Cortesía de Kim Findlay).

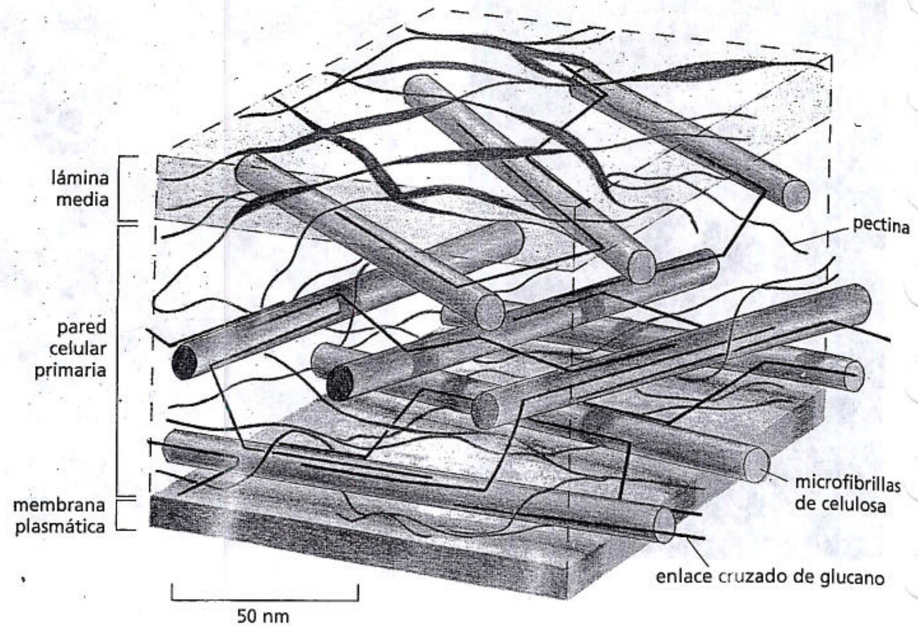


Figura 20-5. Modelo en escala que muestra una porción de la pared celular primaria de un vegetal. Las barras *verdes* representan fibrillas de celulosa que proporcionan resistencia a la tensión; otros polisacáridos forman enlaces cruzados con las fibrillas de celulosa (líneas *rojas*) mientras que el polisacárido pectina (líneas *azules*) llena los espacios entre ellas y proporciona resistencia a la compresión. La lámina media (*amarilla*) tiene alto contenido en pectina y es la capa que adhiere una pared celular con la otra.

Las microfibrillas de celulosa proporcionan la resistencia a la tensión de la pared celular vegetal

Al igual que todas las matrices extracelulares, las paredes de las células vegetales deben su resistencia a la presencia de fibras largas orientadas en forma paralela a las líneas de tensión. En los vegetales superiores las fibras largas suelen estar compuestas por el polisacárido celulosa, que es la macromolécula orgánica más abundante en la Tierra. Estas **microfibrillas de celulosa** están entremezcladas con otros polisacáridos y con algunas proteínas estructurales que están unidas formando una estructura compleja que resiste la compresión y la tensión (Fig. 20-5). En el tejido leñoso, la red de lignina con abundantes enlaces cruzados y compuesta por otra clase de moléculas se deposita dentro de esta matriz aumentando su rigidez e impermeabilidad.

Cuando una célula vegetal crece o cambia de forma, la pared celular se estira o se deforma. Como las microfibrillas de celulosa resisten el estiramiento, su orientación determina la dirección en que se alarga la célula en crecimiento: si, por ejemplo, las fibras están orientadas en sentido circunferencial como un corsé, la célula crecerá con mayor facilidad en sentido longitudinal que circunferencial (Fig. 20-6). En consecuencia, por medio del control de la forma en que orienta su pared, la célula vegetal controla su propia forma y, de esta manera, la dirección del crecimiento del tejido al que pertenece.

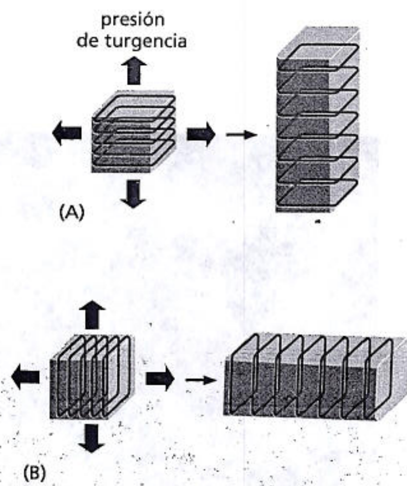


Figura 20-6. La orientación de las microfibrillas de celulosa dentro de la pared celular del vegetal influye sobre la dirección en que se alarga la célula. Las células de (A) y (B) comienzan con formas idénticas (ilustradas como cubos) pero con orientaciones diferentes de las microfibrillas de celulosa que forman sus paredes. Aunque la presión de turgencia es uniforme en todas las direcciones, cada célula tiende a alargarse en una dirección perpendicular a la orientación de las microfibrillas, lo que proporciona gran resistencia a la tensión. La forma final de un órgano, p. ej. de un brote, depende de la dirección en que se expanden sus células.

La celulosa se produce de una manera completamente diferente de la mayoría de las demás macromoléculas extracelulares. En lugar de producirse dentro de la célula y a continuación exportarse por exocitosis (véase capítulo 15), la celulosa se sintetiza sobre la superficie externa de la célula por la acción de complejos enzimáticos incluidos en la membrana plasmática. Estos complejos transportan monómeros de azúcar a través de la membrana y los incorporan a un conjunto de cadenas de polímeros que crecen en los sitios de adhesión a la membrana. Cada conjunto de cadenas forma una microfibrilla de celulosa. Los complejos enzimáticos se desplazan a lo largo de la membrana donde alargan polímeros nuevos y sintetizan microfibrillas de celulosa orientadas.

Las vías que siguen los complejos enzimáticos determinan la orientación en la que se deposita la celulosa en la pared celular; pero ¿qué es lo que guía a estos complejos enzimáticos? Debajo de la membrana plasmática los microtúbulos se alinean igual que las microfibrillas de celulosa fuera de la célula (Figs. 20-7A y B).

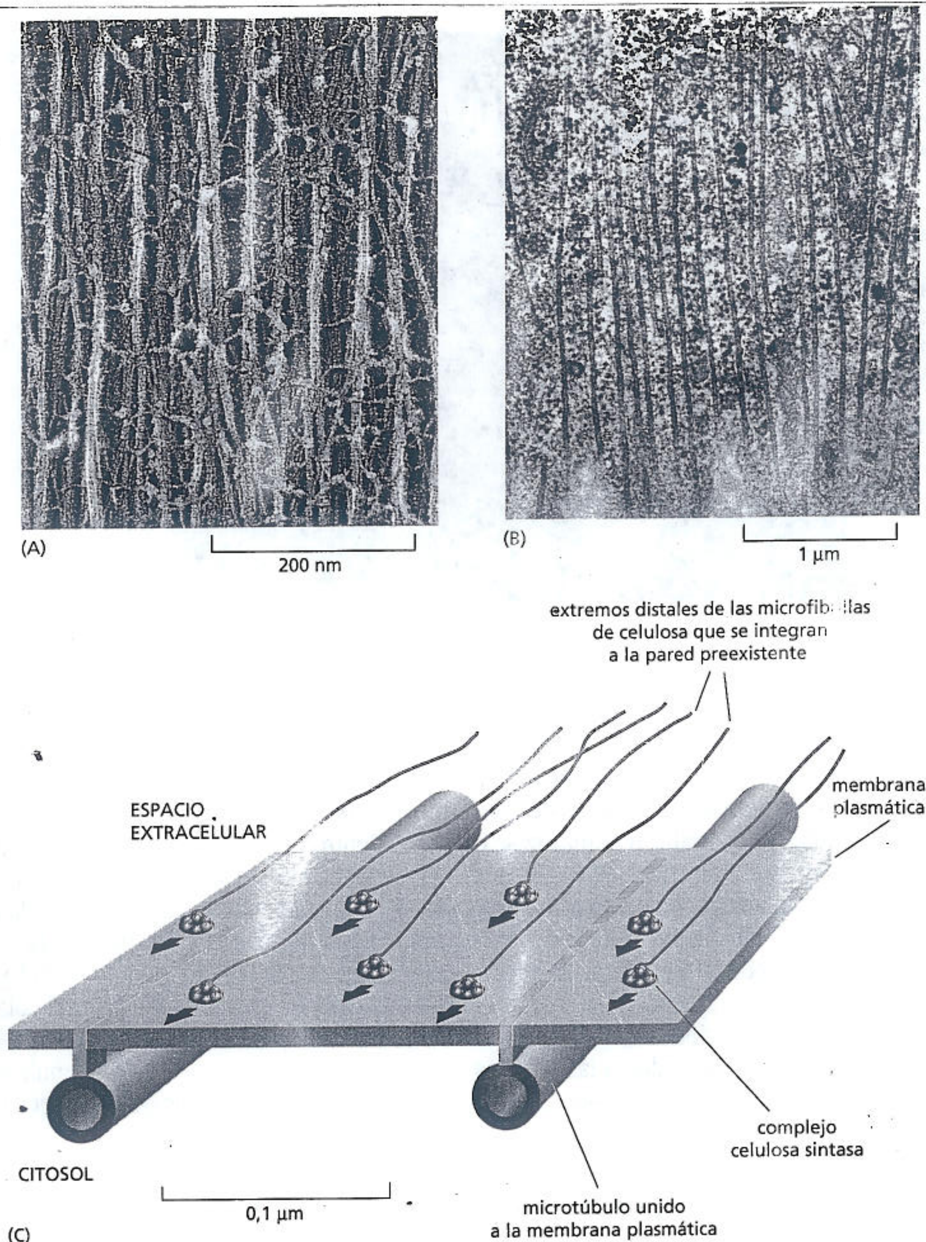


Figura 20-7. Los microtúbulos dirigen el depósito de celulosa en la pared celular del vegetal. (A) Microfibrillas de celulosa orientadas en una pared celular vegetal observadas con microscopia electrónica.
(B) Microtúbulos orientados justo debajo de la membrana plasmática de una célula vegetal.
(C) Modelo que indica la forma en que la orientación de las microfibrillas de celulosa extracelulares recién depositadas podría depender de la orientación de los microtúbulos intracelulares. Los grandes complejos enzimáticos de celulosa sintasas son proteínas integrales de la membrana que sintetizan microfibrillas de celulosa en forma continua sobre la cara externa de la membrana plasmática. Los extremos externos de las microfibrillas rígidas se integran a la textura de la pared y su elongación en el otro extremo tracciona del complejo sintasa a lo largo del plano de la membrana. Como los microtúbulos corticales se unen a la membrana plasmática y limitan la localización del complejo enzimático a sectores definidos de la membrana, la orientación de los microtúbulos determina la dirección en que se disponen las microfibrillas. (A, cortesía de Brian Wells y Keith Roberts; B, cortesía de Brian Gunning).

Se considera que estos microtúbulos son como caminos que guían el desplazamiento de los complejos enzimáticos (Fig. 20-7C). De esta manera indirecta el citoesqueleto controla la forma de la célula vegetal y el modelado de los tejidos vegetales. Pronto se verá que en las células animales el citoesqueleto controla la estructura tisular de forma mucho más directa.

PREGUNTA 20-1

Las células pertenecientes al tallo de un brote cultivado en la oscuridad orientan sus microtúbulos en sentido horizontal. ¿Cómo se verá afectado el crecimiento de la planta?

Los tejidos conectivos de los animales están compuestos en gran medida por matriz extracelular

Si bien tradicionalmente se distinguen cuatro tipos principales de tejidos en los animales –conectivo, epitelial, nervioso y muscular–, la distinción estructural básica es entre los tejidos conectivos y el resto. En los **tejidos conectivos** la matriz extracelular es abundante y soporta carga mecánica. En otros tejidos, como por ejemplo los epitelios, la matriz extracelular es escasa, las células están unidas entre sí directamente y soportan las cargas mecánicas. Primero analizaremos el tejido conectivo.

Los tejidos conectivos de los animales son muy variados. Pueden ser duros y flexibles como los tendones o la dermis de la piel, duros y densos como el hueso,

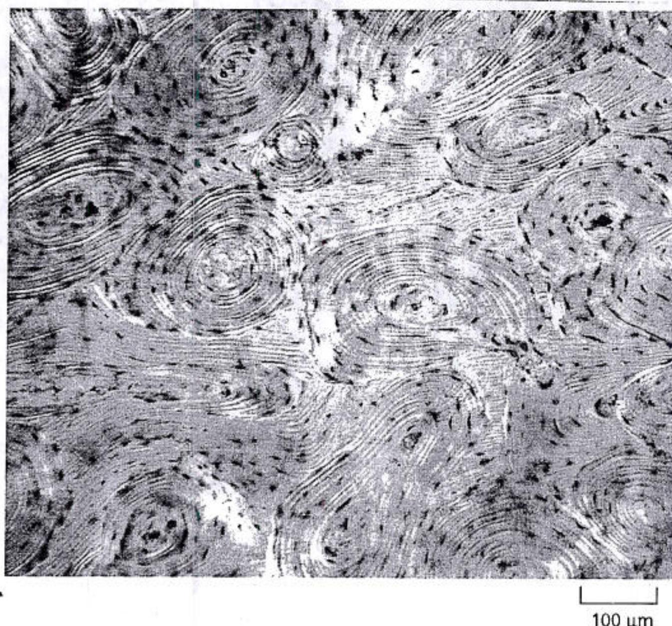


Figura 20-8. La matriz extracelular es abundante en tejidos conectivos como el hueso. En este corte transversal del hueso las células aparecen como objetos pequeños y oscuros similares a hormigas incluidos en la matriz ósea, que ocupa la mayor parte del volumen del tejido y proporciona toda su resistencia mecánica. Las bandas claras y oscuras alternantes son capas de la matriz que contienen colágeno orientado (que se visualiza con la ayuda de luz polarizada). Los cristales de fosfato de calcio que llenan los intersticios entre las fibrillas de colágeno determinan que la matriz ósea sea más resistente a la compresión y a la tensión, como si fuera hormigón armado.

flexibles y capaces de absorber las tensiones como el cartílago, o blandos y transparentes como el gel que ocupa el interior del globo ocular. En todos estos ejemplos la matriz extracelular ocupa el mayor porcentaje del volumen tisular y las células que producen la matriz se esparcen dentro de ella como pasas de uva dentro de un budín (Fig. 20-8). En todos estos tejidos la resistencia a la tensión –sea elevada o baja– no depende de un polisacárido, como en los vegetales, sino de una proteína fibrosa, el colágeno. Los diversos tipos de tejidos conectivos deben sus características específicas al tipo de colágeno que contienen, a su cantidad y, lo que es más importante, a las otras moléculas que se entremezclan con el colágeno en proporciones variables. Estas comprenden la proteína elástica elastina, que confiere la elasticidad a las paredes de los vasos sanguíneos cuando los pulsos de sangre pasan por ellos, así como muchas moléculas de polisacáridos especializados, que se describen en breve.

PREGUNTA 20-2

Las mutaciones en los genes que codifican el colágeno suelen producir consecuencias deletéreas que determinan el desarrollo de enfermedades graves e incapacitantes. Las mutaciones que sustituyen glicinas son particularmente devastadoras porque este aminoácido es necesario cada tres posiciones en la cadena polipeptídica del colágeno para que pueda adquirir su forma de varilla triple helicoidal característica (véase Fig. 20-9).

A. ¿Sería esperable que las mutaciones en el colágeno fuesen deletéreas si sólo hubiera un defecto en una de las dos copias de un gen de colágeno?

B. Una observación desconcertante es que la sustitución de un residuo de glicina por otro aminoácido es más nociva si se produce hacia el extremo aminoterminal del dominio formador de la varilla. Sugiera una explicación de este hecho.

El colágeno aporta la resistencia a la tensión en los tejidos conectivos de los animales

El **colágeno** se encuentra en todos los animales multicelulares y se presenta en varias formas. Los mamíferos tienen alrededor de 20 genes diferentes que codifican las diversas formas de colágeno necesarias en los distintos tejidos. Los colágenos son las proteínas principales de los huesos, los tendones y la piel (el cuero es colágeno curtido) y constituyen el 25% del total de la masa proteica presente en los mamíferos, un porcentaje mayor que el de cualquier otro tipo de proteína.

El rasgo característico de una molécula de colágeno típica es su estructura de triple hélice larga y rígida, en la que tres cadenas polipeptídicas de colágeno se entrelazan formando una superhélice similar a una cuerda (véase Fig. 4-25A). A su vez, estas moléculas se ensamblan y constituyen polímeros ordenados, denominados fibrillas de colágeno, que son como cables delgados de entre 10 y 300 nm de diámetro y muchos micrómetros de longitud; estas fibrillas pueden empaquetarse unas con otras y formar fibras de colágeno más gruesas (Fig. 20-9). Otras moléculas de colágeno se ubican en la superficie de las fibrillas y las conectan entre sí y con otros componentes de la matriz extracelular.

Las células del tejido conectivo que sintetizan la matriz y se alojan en ella reciben varios nombres de acuerdo con el tejido de que se trate; por ejemplo, en la piel, los tendones y muchos otros tejidos conectivos se denominan **fibroblastos** (Fig. 20-10) y en el hueso se denominan *osteoblastos*. Estas células sintetizan colágeno

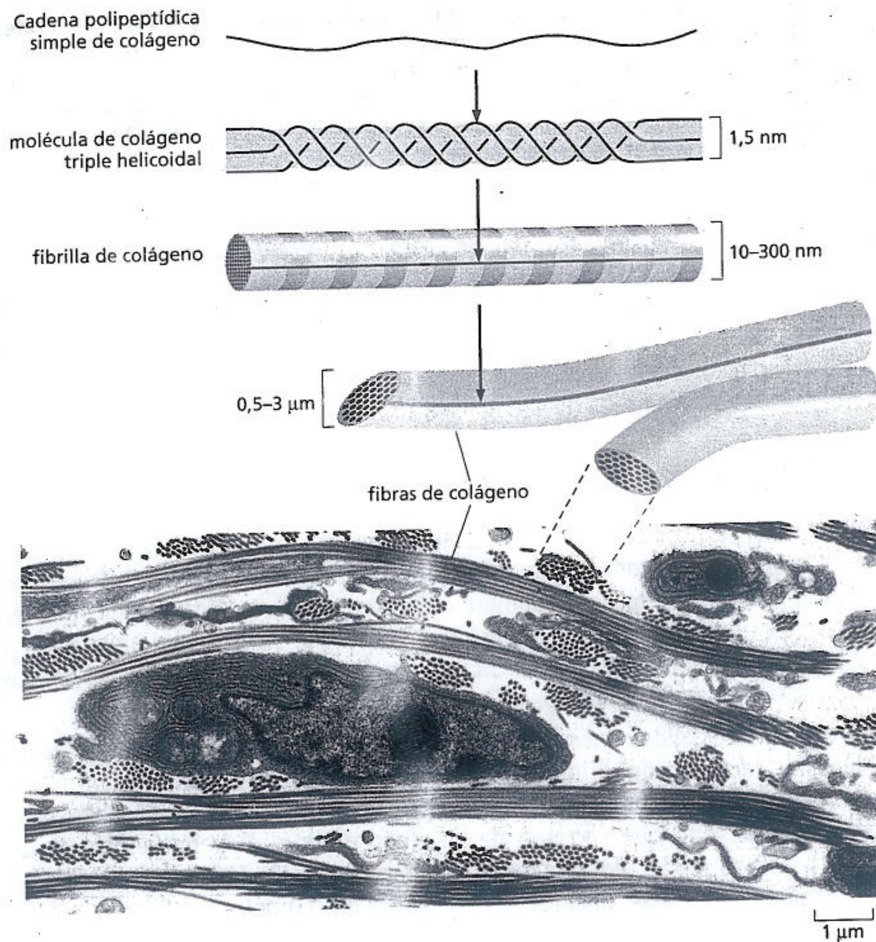


Figura 20-9. Las fibrillas de colágeno están organizadas en haces. Los dibujos muestran que los pasos del ensamblado del colágeno a partir de cadenas polipeptídicas individuales en moléculas de colágeno triple helicoidal, a continuación en fibrillas y, por último, en fibras. La microfotografía electrónica muestra al colágeno completamente ensamblado en el tejido conectivo de la piel de un embrión de pollo. Las fibrillas se organizan en haces (fibras), algunos dispuestos en el plano del corte y otros que forman ángulos aproximadamente rectos con ese plano del corte. La célula de la fotografía es un fibroblasto, que secreta colágeno así como otros componentes de la matriz extracelular. (Fotografía de C. Ploetz, et al., *J Struct Biol* 106:73-81,1991. Con autorización de Elsevier).

no y otros componentes orgánicos de la matriz. Casi todas las moléculas se producen dentro de la célula y luego se secretan de la manera habitual por exocitosis (véase capítulo 15). Fuera de la célula estas moléculas se ensamblan en grandes agregados cohesivos. Si el ensamblado se produjera en forma prematura, antes de la secreción, la célula se obstruiría con sus propios productos. En el caso del colágeno, las células no sufren este riesgo pues secretan moléculas de colágeno en la forma de un precursor, denominado procolágeno, con péptidos adicionales en cada extremo que impiden el ensamblado de las fibrillas. Las enzimas extracelulares –conocidas como procolágeno proteinasas– cortan estos dominios terminales, lo que permite el ensamblado sólo después de que las moléculas hayan llegado al espacio extracelular.

Algunas personas tienen un defecto genético en una de estas proteinasas o en el procolágeno propiamente dicho que determina que las fibrillas de colágeno no se ensamblen en forma correcta. Como consecuencia, la piel y varios otros tejidos conectivos tienen menor resistencia a la tensión y una extraordinaria capacidad de estiramiento (Fig. 20-11).

Las células en los tejidos deben ser capaces de sintetizar la matriz así como de degradarla. Esta capacidad es esencial para el crecimiento, la reparación y la renovación del tejido; también es importante en los sitios en los que las células migra-

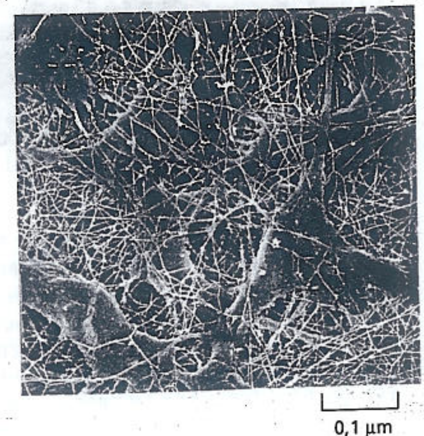


Figura 20-10. Los fibroblastos producen la matriz extracelular de tejido conectivo. La microfotografía electrónica de barrido muestra fibroblastos y colágeno en el tejido conectivo proveniente de la córnea de una rata. Por medio de tratamientos con enzimas y ácidos se eliminaron otros componentes que en condiciones normales forman un gel hidratado que ocupa los espacios entre las fibrillas de colágeno. (De T. Nishida et al., *Invest Ophtalmol Vis Sci.* 29:1887-1890, 1988. Con autorización de ARVO).

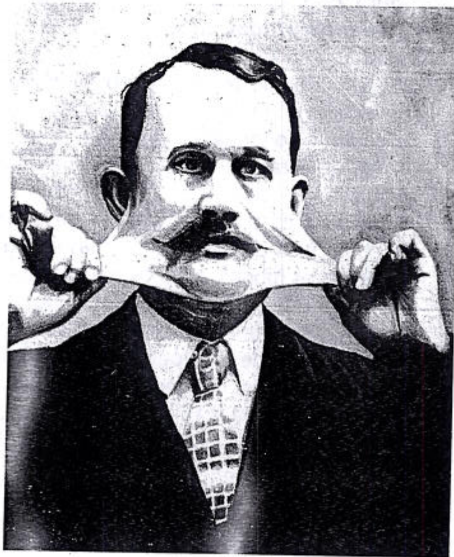


Figura 20-11. El ensamblado inapropiado del colágeno puede producir hiperextensibilidad de la piel. James Morris, "el hombre de la piel elástica", en una fotografía obtenida aproximadamente en 1890. La piel anormalmente extensible forma parte de un síndrome genético producido por un defecto en el ensamblado o en la formación de los enlaces cruzados en el colágeno. En algunos individuos esta enfermedad se debe a la falta de una proteinasa que convierte el procolágeno en colágeno.

torias, como los macrófagos, deben traspasar el espesor del colágeno y de otros polímeros de la matriz extracelular. Las proteasas de la matriz que escinden las proteínas extracelulares participan en el desarrollo de muchas enfermedades, que incluyen desde la artritis, en la que contribuyen a la degradación del cartílago en las articulaciones comprometidas, hasta el cáncer, en el que ayudan a las células neoplásicas a invadir los tejidos normales.

Las células organizan el colágeno que secretan

Las fibrillas de colágeno cumplen adecuadamente su función cuando se alinean en forma correcta. Por ejemplo, en la piel, las fibrillas se entrelazan formando un patrón similar a un tejido de mimbre o constituyen capas alternadas con diversas orientaciones que resisten las tensiones generadas en muchas direcciones (Fig. 20-12). En los tendones, que insertan los músculos en los huesos, las fibrillas se alinean en fascículos paralelos a lo largo del eje mayor de tensión.

Las células del tejido conectivo controlan esta orientación, en parte por medio del depósito del colágeno en una orientación específica y en parte por medio de su reordenamiento posterior. Durante el desarrollo del tejido, los fibroblastos moldean el colágeno que secretan desplazándose sobre él y traccionando de sus fibras; de este modo, contribuyen a compactarlo en láminas y a formar estructuras similares a cables–. Esta función mecánica que cumplen los fibroblastos dando forma a las matrices de colágeno ha podido demostrarse muy bien en cultivos celulares. Cuando los fibroblastos se mezclan con una red de fibrillas de colágeno orientadas al azar que forman un gel en una placa de cultivo se observa cómo traccionan de la red, lo que determina el movimiento del colágeno desde sus alrededores y su compactación. Si se colocan dos fragmentos de tejido embrionario que contengan fibroblastos con colágeno interpuesto sobre un gel de colágeno, el colágeno interpuesto se organiza y forma una banda densa de fibras alineadas que conectan los dos fragmentos (Fig. 20-13). Los fibroblastos emigran de los fragmentos a lo largo de las fibras de colágeno alineadas. Esto significa que los fibroblastos influyen sobre la alineación de las fibras de colágeno y que estas fibras, a su vez, afectan la distribución de los fibroblastos. Es probable que los fibroblastos cumplan una función similar en la producción de un orden superior en la matriz extracelular del organismo –por ejemplo, que contribuyan a la síntesis de los tendones y de las capas de tejido conectivo rígidas y densas que rodean y conectan la mayoría de los órganos–. La migración de los fibroblastos también es importante para la curación de heridas (Película 20.1).

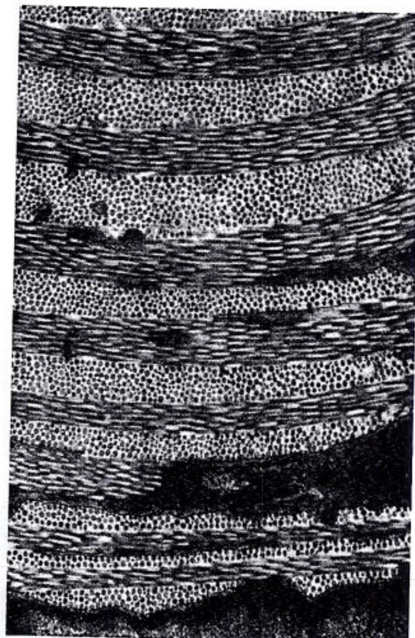


Figura 20-12. Las fibrillas de colágeno de la piel forman patrones similares a madera terciada. Hay capas sucesivas de fibrillas que forman ángulos casi rectos entre sí (véase también figura 20-9). Microfotografía electrónica de un corte transversal de la piel de un renacuajo. Esta disposición también se observa en el hueso maduro y en la córnea. (Cortesía de Jerome Gross).

Las integrinas acoplan la matriz extracelular con el citoesqueleto intracelular

Si las células traccionan la matriz y se desplazan sobre su superficie, deben ser capaces de adherirse a ella. Las células no se unen en forma apropiada al colágeno desnudo. Otra proteína de la matriz extracelular, la **fibronectina**, permite la conexión: una parte de la molécula de fibronectina se une al colágeno mientras que otra parte forma un sitio de inserción en la célula (Fig. 20-14A).

La célula se adhiere al sitio específico en la fibronectina a través de una proteína receptora, denominada **integrina**, que atraviesa la membrana plasmática de la célula. El dominio extracelular de la integrina se une a la fibronectina mientras que el dominio intracelular se adhiere (a través de un conjunto de moléculas de adaptación) a los filamentos de actina (Fig. 20-14C). Debido a este anclaje, en

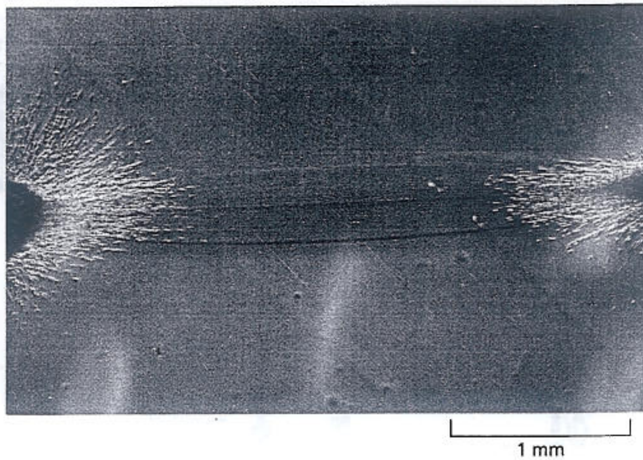


Figura 20-13. Los fibroblastos influyen sobre la alineación de las fibras de colágeno. Esta microfotografía muestra una región entre dos fragmentos del corazón de un embrión de pollo (con abundantes fibroblastos y células musculares lisas) que crecieron en cultivo sobre un gel de colágeno durante cuatro días. Se formó un trayecto denso de fibras de colágeno alineadas entre los fragmentos, presumiblemente como consecuencia de la tracción de los fibroblastos presentes en los fragmentos sobre el colágeno. En otras partes de la placa de cultivo el colágeno permanece desorganizado y no alineado, de manera que su aspecto es gris y uniforme. (De D. Stopak y A. K. Harris, *Dev Biol* 90:383-398, 01982. Con autorización de Elsevier).

lugar de despegarse de la membrana cuando se desarrolla tensión entre la célula y la matriz, la molécula de integrina transmite la tensión desde la matriz hacia el citoesqueleto más sólido y resistente.

Las integrinas no sólo transmiten la tensión en forma pasiva; también reaccionan a la tensión y a las señales químicas desde el interior y el exterior de la célula que las dirige, lo que contribuye a mantener la adherencia con otras moléculas o a separarlas. Por ejemplo, las integrinas forman y rompen adherencias a medida que la célula avanza lentamente a través de un tejido; la mantiene sujeta a la matriz en su extremo frontal y la libera la parte posterior (véase Fig. 17-32).

Las integrinas llevan a cabo estas funciones mediante cambios conformacionales notables. La unión a una molécula sobre un lado de la membrana determina que

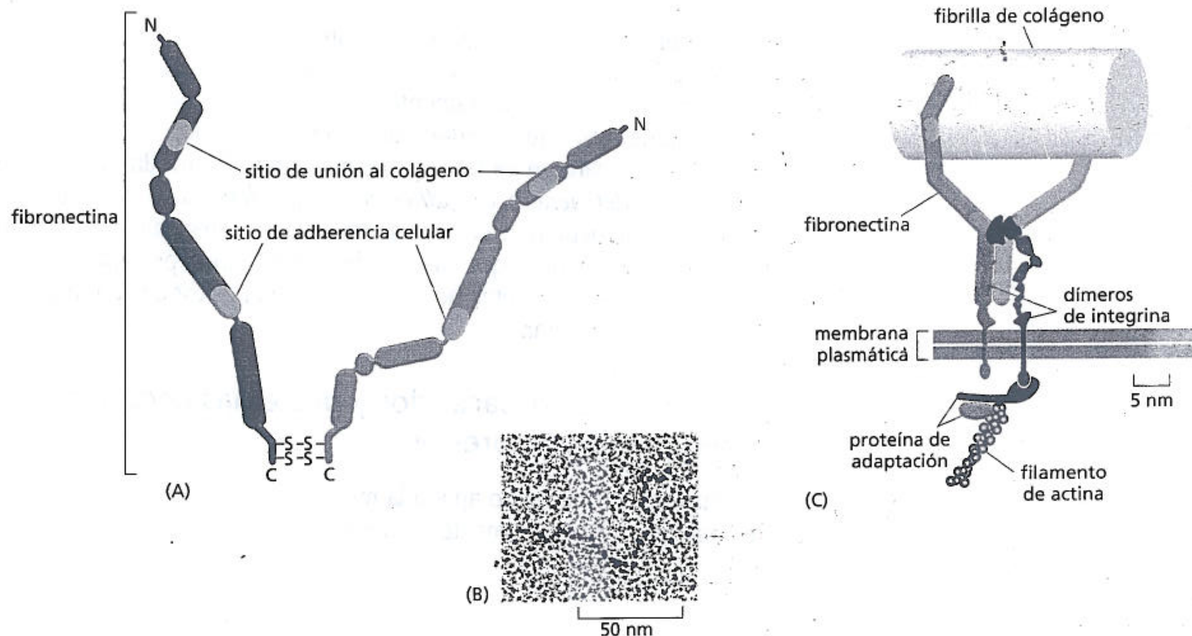


Figura 20-14. La fibronectina y las integrinas conectan la matriz extracelular con el citoesqueleto en una célula animal. Las moléculas de fibronectina fuera de la célula se unen a las fibrillas de colágeno. Las integrinas en la membrana celular se unen a la fibronectina y la fijan al citoesqueleto de la célula. (A) Diagrama y (B) microfotografía electrónica de una molécula de fibronectina. (C) Conexión transmembrana mediada por una molécula de integrina. La molécula de integrina transmite la tensión a través de la membrana plasmática: está anclada al citoesqueleto en el interior de la célula y a otras proteínas de la matriz extracelular a través de la fibronectina. La membrana plasmática propiamente dicha no debe ser resistente. La integrina ilustrada conecta la fibronectina con un filamento de actina en el interior de la célula, pero otras integrinas conectan distintas proteínas extracelulares con el citoesqueleto (por lo general con filamentos de actina, pero a veces con filamentos intermedios). (B, de J Engel et al., *J. Mol Biol* 150:97-120, 1981. Con autorización de Elsevier).

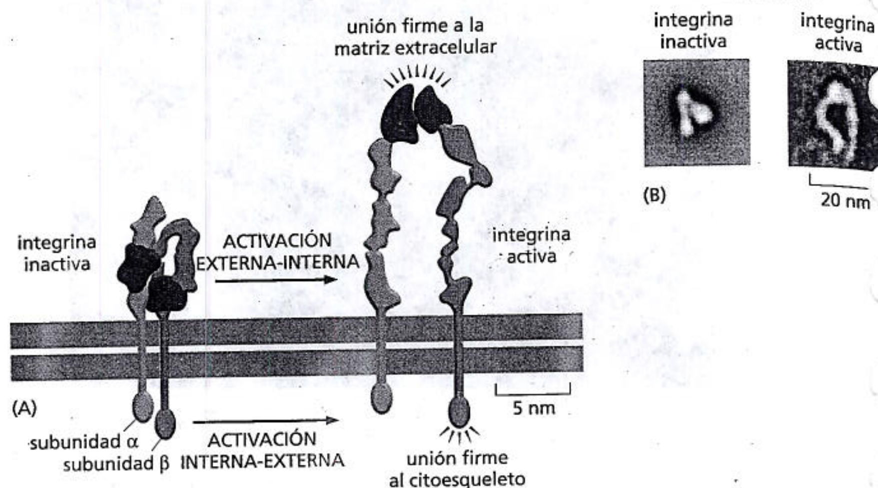


Figura 20-15. Una molécula de integrina cambia a una conformación activa cuando se une a moléculas en cualquiera de sus extremos. (A) La molécula de integrina consta de dos subunidades diferentes, α y β, y puede cambiar entre una forma inactiva plegada y una forma activa extendida. El cambio al estado activado puede ser inducido por la unión a una molécula de la matriz extracelular (como la fibronectina) o a proteínas intracelulares que entonces la liga al citoesqueleto. En cualquiera de los casos, el cambio conformacional altera la molécula de modo que sus extremos opuestos forman con rapidez una adherencia que contrapesa con su estructura apropiada. De este modo, la integrina crea un enlace mecánico que separa la membrana. (B) Microfotografías electrónicas de moléculas aisladas de integrina que muestran cómo cambian su forma en respuesta a un péptido pequeño que simula un ligando extracelular al que se une la integrina (el péptido en sí es demasiado pequeño como para poder verlo). (A, basado en T. Xiao et al., *Nature* 432:59-67, 2004. Con autorización de Macmillan Publishers Ltda.; B, de J. Takagi et al., *Cell* 110:599-611, 2002. Con autorización de Elsevier).

la molécula de integrina se estire en un estado activado (extendida) de modo q pueda entonces sujetarse sobre otra molécula del lado opuesto; un efec que opera en ambas direcciones a través de la membrana (Fig. 20-15).

Estos cambios conformacionales en las integrinas transmiten señales químicas como mecánicas a través de la membrana celular. Una molécula de señalización intracelular puede activar la integrina desde el interior de la célula, lo que provoca su extensión y su amarre a una estructura extracelular. La unión a una estructura externa activa las cascadas de señalización intracelulares a través de proteincinasas que se asocian con el extremo intracelular de la molécula de integrina. De esta manera, las adherencias externas que establece una célula ayudan a regu si vive o muere y, si sobrevive, si crece, se divide o se diferencia.

Los seres humanos elaboran al menos 24 clases diferentes de integrinas, que reconocen estructuras extracelulares diferentes y tienen funciones definidas seg el tipo celular en el que residen. Por ejemplo, las integrinas de los leucocitos los ayudan a desplazarse lentamente fuera de los vasos sanguíneos en los sitios de infección de modo que puedan hacer frente a los microorganismos exógenos. l personas que carecen de este tipo de integrinas desarrollan una enfermedad conocida como *deficiencia de adhesión de los leucocitos* y sufren de infecciones bacterianas repetidas. Una forma diferente de integrina se encuentra en las p quetas. Los individuos que carecen de esta integrina presentan hemorragias excesivas porque las plaquetas no pueden unirse al factor de coagulación necesario en la matriz extracelular.

Los geles de polisacáridos y proteínas llenan los espacios y resisten la compresión

Mientras que el colágeno aporta la resistencia a la tensión soportando el estiramiento, un grupo completamente diferente de macromoléculas presentes en la ma

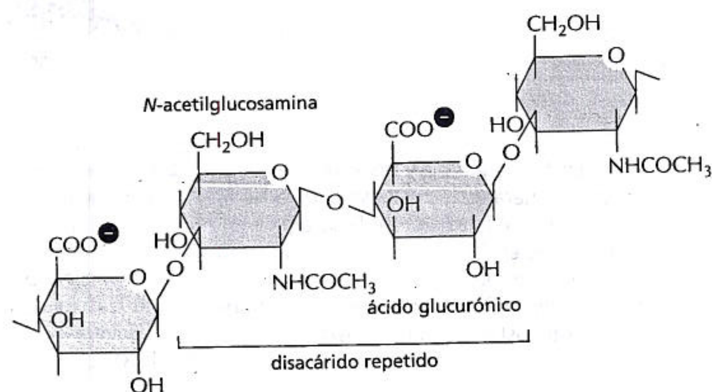


Figura 20-16. Los glucosaminoglucanos (GAG) ayudan a llenar los espacios en la matriz extracelular de los tejidos conectivos. El hialuronano, un GAG relativamente simple, está compuesto por una sola cadena larga que tiene hasta 25.000 unidades repetidas de disacáridos, cada una portadora de una carga negativa. Como en otros GAG, uno de los monómeros de azúcar en cada unidad de disacáridos forma un aminoazúcar. Muchos GAG tienen grupos laterales con cargas negativas adicionales, en especial grupos sulfato.

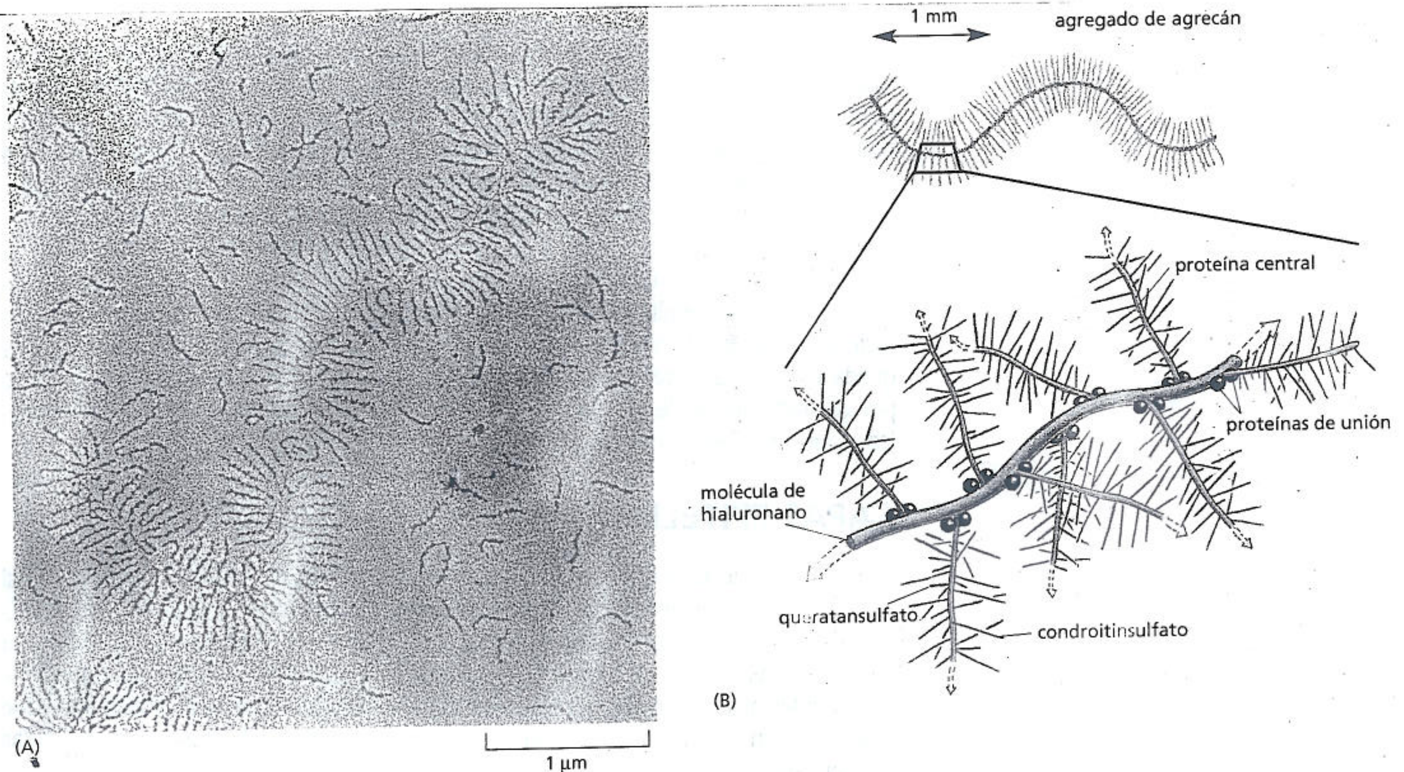


Figura 20-17. Los proteoglucanos y los GAG pueden formar grandes agregados. (A) Microfotografía electrónica de un agregado formado por la dispersión de tejido cartilaginoso sobre una superficie plana. También se observan muchas subunidades libres, que corresponden a grandes macromoléculas de proteoglucanos. (B) Esquema del agregado gigante ilustrado en (A) que muestra el modo en que se formó a partir de GAG *(rojo y azul)* y proteínas *(verde y negro)*. El peso molecular de un complejo de este tipo puede alcanzar o superar los 10^8 daltons y ocupa un volumen equivalente al de una bacteria, o sea alrededor de 2×10^{-12} cm^3. (Cortesía de Lawrence Rosenberg).

extracelular de los tejidos animales cumple una función complementaria que consiste en resistir la compresión y ocupar los espacios libres. Estas moléculas son los **proteoglucanos**, que corresponden a proteínas extracelulares ligadas con una clase especial de polisacáridos complejos con carga negativa denominados **glucosaminoglucanos (GAG)** (Fig. 20-16). Los proteoglucanos tienen tamaños, formas y estructuras químicas muy variables. La característica típica es que muchas cadenas de GAG están unidas con una sola proteína central que, a su vez, puede fijarse en un extremo a otro GAG y constituir una macromolécula enorme similar a una escobilla para limpiar botellas con un peso molecular de millones de daltons (Fig. 20-17).

En tejidos conectivos densos y compactos, como los tendones y los huesos, la proporción de GAG es baja y la matriz está compuesta casi en forma exclusiva por colágeno (o, en el caso del hueso, por colágeno con cristales de fosfato de calcio). En el otro extremo, el parénquima de tipo gel presente en el interior del globo ocular está compuesto casi en su totalidad por un tipo específico de GAG y agua, con sólo una pequeña proporción de colágeno. En general, los GAG son muy hidrófilos y tienden a adoptar conformaciones muy extensas que ocupan un gran volumen en relación con su masa (véase Fig. 20-17). Estas moléculas forman geles incluso cuando se encuentran en concentraciones muy bajas y sus múltiples cargas negativas atraen una nube de cationes, como por ejemplo Na^+, que son activos desde el punto de vista osmótico y determinan el pasaje de grandes cantidades de agua hacia la matriz. Esto produce una presión de tumefacción equilibrada por la tensión generada en las fibras de colágeno entrelazadas con los proteoglucanos. Cuando la matriz contiene un alto contenido de colágeno y quedan atrapados en sus mallas grandes cantidades de GAG tanto la presión de tumefacción como la tensión que se contrapone a ella son enormes. Esta clase de matriz es dura, flexible y resistente a la compresión. Por ejemplo, la matriz cartilaginosa que cubre la articulación de la rodilla tiene esta característica: puede soportar presiones de centenares de kilogramos por centímetro cuadrado.

PREGUNTA 20-3

Los proteoglucanos se caracterizan por la abundancia de cargas negativas en sus cadenas de azúcares. ¿En qué diferirían las propiedades de estas moléculas si las cargas negativas no fueran tan abundantes?

Los proteoglucanos llevan a cabo muchas funciones sofisticadas además de proporcionar un espacio hidratado alrededor de las células. Estas moléculas pueden formar geles con distintos tamaños de poros y densidad de carga variable que actúan como filtros que regulan el pasaje de las moléculas a través del medio extracelular. Pueden unirse a factores de crecimiento secretados y a otras proteínas que actúan como señales para las células. Además, estas moléculas pueden bloquear, estimular o guiar la migración de la célula a través de la matriz. Los componentes de la matriz influyen sobre el comportamiento de las células en todas estas formas y muchas veces afectan a las mismas células que sintetizan la matriz –lo que representa una interacción recíproca que ejerce efectos importantes sobre la diferenciación celular–. Todavía queda mucho por aprender sobre la forma en que las células tejen el tapiz formado por las moléculas de la matriz y la manera en que se organizan y actúan los mensajes químicos presentes en sus estructuras.

CAPAS EPITELIALES Y UNIONES CELULARES

En el cuerpo de un vertebrado hay más de 200 tipos de células diferentes. Casi todas estas células se encuentran organizadas en **epitelios** –o sea que están unidas una junto a la otra formando capas multicelulares–. En ciertos casos, la capa tiene muchas células de espesor, lo que implica que está *estratificada*, como la capa epidérmica de la piel; en otros casos sólo hay una célula de espesor, lo que determina un *epitelio simple*, como en el revestimiento del intestino. Las células pueden ser largas y cilíndricas, cuboides o bien planas y pavimentosas (Fig. 20-18). Todas las células de una capa pueden parecerse o corresponder a una combinación de tipos diferentes. Algunos epitelios, como la piel, pueden actuar simplemente como barrera protectora; otros, tienen funciones bioquímicas más complejas. Algunos secretan productos especializados como hormonas, leche o lágrimas; otros, como el epitelio de revestimiento del intestino, absorben nutrientes o pueden detectar señales, como por ejemplo los fotorreceptores en el ojo o las células ciliadas del oído. A pesar de éstas y muchas otras variaciones se puede reconocer un conjunto básico de características estructurales que comparten casi todos los epitelios animales. La disposición de las células epiteliales es tan común que tendemos a restarle importancia; sin embargo, requiere ciertos dispositivos especializados, como veremos a continuación, y éstos son los mismos en una amplia variedad de tipos celulares diferentes.

Los epitelios cubren la superficie externa del cuerpo y revisten todas sus cavidades internas, lo que implica que deben haber representado una característica temprana en la evolución de los animales multicelulares. Su importancia es evidente. Las células unidas en una capa epitelial forman una barrera que tiene la misma importancia para el organismo multicelular que la membrana plasmática para el unicelular. Esta capa mantiene algunas moléculas en el interior y otras en el exterior, absorbe nutrientes y elimina desperdicios, alberga receptores que captan las

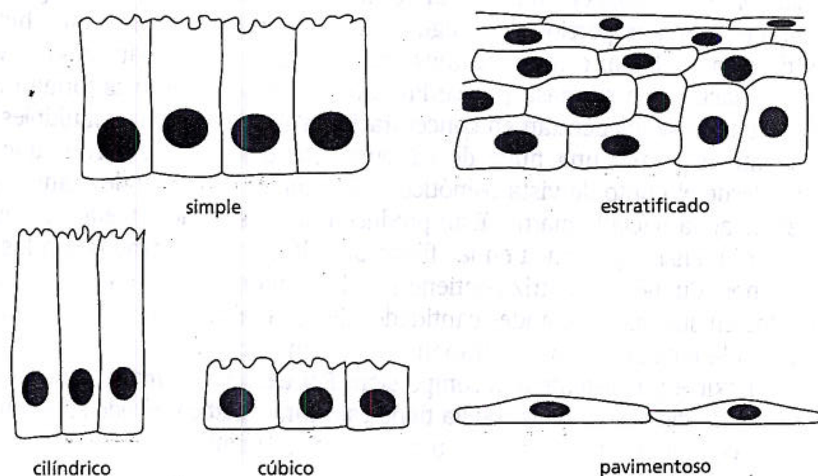


Figura 20-18. Las células pueden agruparse en diversas formas y constituir una capa epitelial. Se muestran cinco tipos básicos de epitelio.

señales del ambiente y protege el interior del organismo de microorganismos invasores y de la pérdida de líquido.

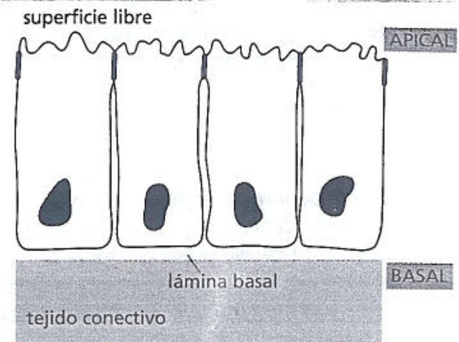


Figura 20-19. Capa de células epiteliales con organización polarizada. La superficie basal se apoya sobre una capa especializada de matriz extracelular denominada lámina basal, mientras que la superficie apical está libre.

Las capas epiteliales están polarizadas y se apoyan sobre una lámina basal

La capa epitelial tiene dos caras: la superficie **apical** libre y expuesta al aire o a un líquido acuoso y la superficie **basal** apoyada sobre algún tejido –por lo general tejido conectivo– al que está unida (Fig. 20-19). La superficie basal del epitelio tiene una capa delgada y resistente de matriz extracelular, denominada **lámina basal** (Fig. 20-20), que está compuesta por un tipo especializado de colágeno (colágeno de tipo IV) y varias otras moléculas , p. ej., una proteína denominada *laminina* que aporta sitios adhesivos para las moléculas de integrina en la membrana plasmática de las células epiteliales y, por lo tanto, cumple una función de conexión similar a la de la fibronectina en los tejidos conectivos.

Las caras apical y basal de un epitelio son diferentes desde el punto de vista químico y reflejan la organización interna polarizada de las células epiteliales individuales: cada célula tiene una parte superior y una inferior, con propiedades distintas. Esta organización polarizada es esencial para la función del epitelio. Por ejemplo, consideremos el epitelio cilíndrico simple que reviste el intestino delgado de un mamífero. Este epitelio está cubierto sobre todo por dos tipos de células: las células encargadas de la absorción o enterocitos, que absorben los nutrientes, y las células caliciformes (denominadas de esta manera por su forma) que secretan moco lo que protege y lubrica el revestimiento del intestino (Fig. 20-21). Ambos tipos de células están polarizados. Los enterocitos importan moléculas alimenticias desde la luz intestinal a través de la superficie apical y las exportan a través de la superficie basal hacia los tejidos subyacentes. Esto se cumple por la presencia de varios grupos de proteínas transportadoras de membrana en sus membranas plasmáticas apical y basal (véase Fig. 12-17). Las células caliciformes también deben estar polarizadas, pero de manera distinta: su tarea consiste en sintetizar moco y secretarlo sólo a través de su extremo apical (véase Fig. 20-21): el complejo de Golgi, las vesículas secretoras y el citoesqueleto están organizados en forma asimétrica lo que permite lograr esta función. Esta organización depende de las uniones que forman las células epiteliales entre sí y con la lámina basal, que a su vez controlan la localización intracelular de las proteínas encargadas de mantener la organización polarizada del citoplasma.

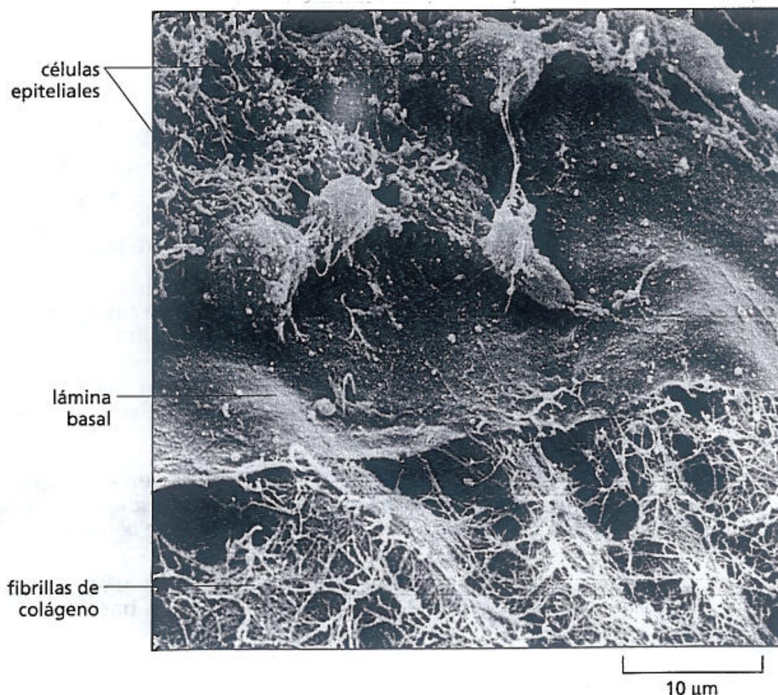


Figura 20-20. La lámina basal sostiene una capa de células epiteliales. Microfotografía electrónica de barrido de una lámina basal en la córnea de un embrión de pollo. Se eliminaron algunas de las células epiteliales para exponer las superficies superiores de la lámina basal, similar a un felpudo, compuesta por colágeno de tipo IV y proteínas lamininas. Una red compuesta de otras fibrillas de colágeno en el tejido conectivo subyacente interactúa con la cara inferior de la lámina. (Cortesía de Robert Trelstad).

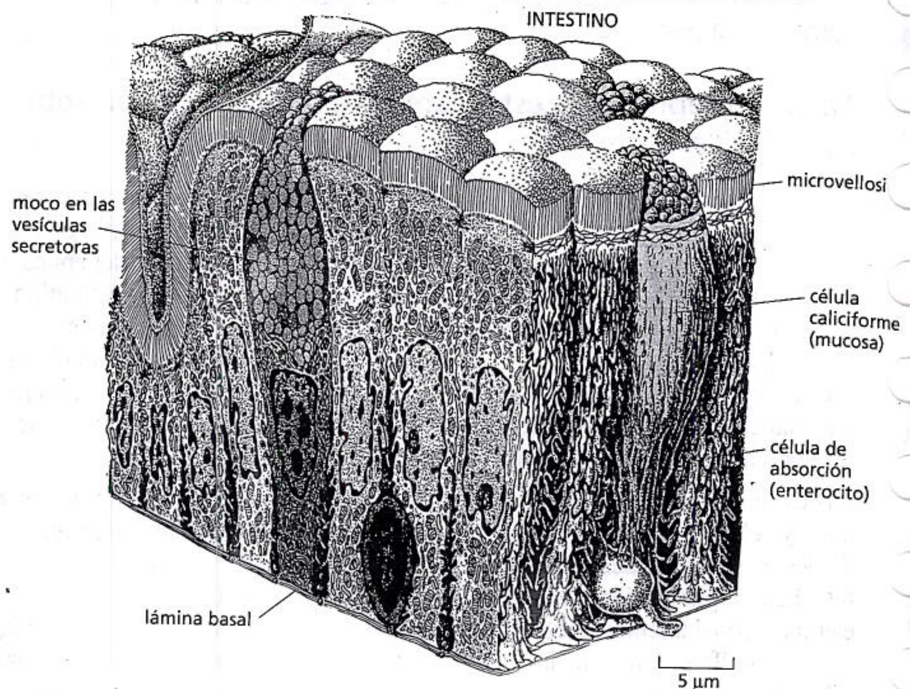


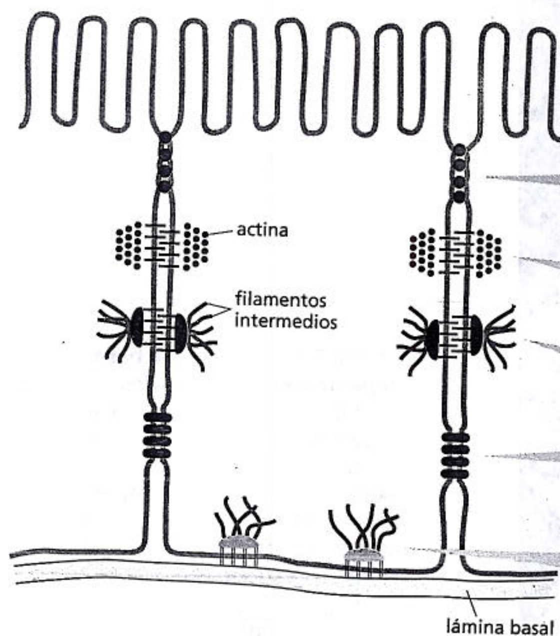
Figura 20-21. Tipos de células polarizadas desde el punto de vista funcional que revisten el intestino. Las células de absorción (enterocitos), que incorporan los nutrientes del intestino, están mezcladas con células caliciformes (*marrón*), que secretan moco en el intestino. A menudo las células de absorción se denominan células del borde (ribete) en cepillo debido a las microvellosidades con aspecto de cepillo presentes sobre las superficies apicales. Estas vellosidades aumentan el área de la membrana que transporta moléculas pequeñas hacia el interior de las células. Las células caliciformes deben su forma a la masa de vesículas secretorias que distiende sus regiones apicales. (Adaptada de R. Krstic Human Microscopic Anatomy. Berlin: Springer, 1991. Con autorización de Springer-Verlag).

Las uniones estrechas determinan la impermeabilidad del epitelio y separan su superficie apical de su superficie basal

Las **uniones entre las células** epiteliales pueden clasificarse de acuerdo con su función. Algunas permiten un cierre hermético que evita el escape de moléculas a través de los espacios existentes entre las células que forman el epitelio, otras representan uniones mecánicas resistentes y otras constituyen algún tipo de comunicación química íntima. En la mayor parte de los epitelios es posible encontrar todos estos tipos de uniones (Fig. 20-22). Cada tipo de unión está caracterizado por su propio grupo de proteínas de membrana que mantienen las células unidas entre sí.

La función de sellado se logra (en los vertebrados) por las **uniones estrechas** u ocluyentes (*tight junctions*). Estas uniones sellan las células vecinas de manera

Figura 20-22. En los epitelios de los animales se encuentran varios tipos de uniones intercelulares. Las uniones estrechas son específicas de los epitelios; los otros tipos también aparecen modificados en tejidos no epiteliales.



nombre	función
unión estrecha	sella las células vecinas que forman una capa epitelial para evitar el escape de moléculas entre ellas
unión adherente	une un filamento de actina de una célula con uno similar de una célula vecina
desmosoma	une los filamentos intermedios de una célula con los de una célula vecina
unión comunicante	forma canales que permiten el pasaje de iones y moléculas hidrosolubles pequeñas, incluso iones, entre células
hemidesmosoma	ancla los filamentos intermedios de una célula en la lámina basal

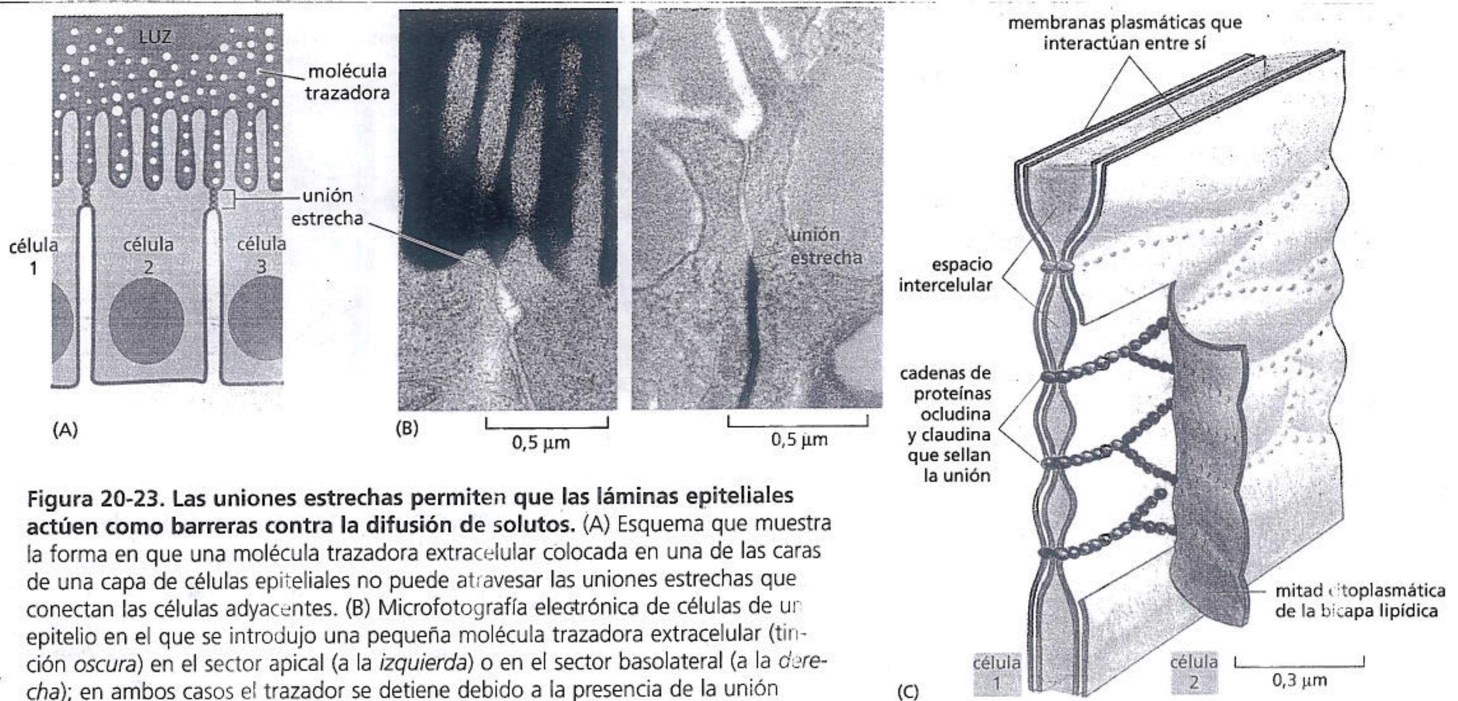


Figura 20-23. Las uniones estrechas permiten que las láminas epiteliales actúen como barreras contra la difusión de solutos. (A) Esquema que muestra la forma en que una molécula trazadora extracelular colocada en una de las caras de una capa de células epiteliales no puede atravesar las uniones estrechas que conectan las células adyacentes. (B) Microfotografía electrónica de células de un epitelio en el que se introdujo una pequeña molécula trazadora extracelular (tinción *oscura*) en el sector apical (a la *izquierda*) o en el sector basolateral (a la *derecha*); en ambos casos el trazador se detiene debido a la presencia de la unión estrecha. (C) Modelo de la estructura de una unión estrecha que muestra la forma en que las células están unidas por proteínas denominadas claudinas y ocludinas (*verde*) en la hoja externa de la membrana plasmática compuesta de dos capas. (B, cortesía de Daniel Friend).

que las moléculas hidrosolubles no puedan pasar con facilidad entre las células. Si se introduce un trazador en una cara de una capa de células epiteliales por lo general no podrá pasar más allá de la unión estrecha (Fig. 20-23). La unión estrecha está compuesta por proteínas denominadas *claudinas* y *ocludinas*, que están dispuestas en cadenas a lo largo de la línea de unión formando una barrera. Sin uniones estrechas que impidan las filtraciones sería inútil la actividad de las bombas en las células destinadas a la absorción, como por ejemplo las que se desarrollan en el intestino, y la composición del medio a ambos lados del epitelio se tornaría homogénea. Como se analizó en el capítulo 11, las uniones estrechas también cumplen una función clave en el mantenimiento de la polaridad de las células epiteliales de dos maneras: en primer lugar, el complejo de la unión estrecha que rodea el borde apical de cada célula evita la difusión de las proteínas de la membrana lo cual mantiene la diferencia entre el dominio apical de la membrana plasmática y el dominio basal o basolateral (véase Fig. 11-34); en segundo lugar, en muchos epitelios las uniones estrechas son sitios del ensamblado de los complejos de proteínas intracelulares que determinan la polaridad apicobasal en el interior de la célula.

Las uniones relacionadas con el citoesqueleto conectan de manera firme las células epiteliales entre sí y con la lámina basal

Las uniones que mantienen unido el epitelio mediante la formación de adherencias mecánicas corresponden a tres tipos principales. Las *uniones adherentes* y los *desmosomas* conectan las células epiteliales entre sí mientras que los *hemidesmosomas* unen las células epiteliales con la lámina basal. Todas estas uniones proporcionan resistencia mecánica por medio de la misma estrategia descrita para el tejido conectivo (véase Fig. 20-14C): la molécula que forma los tramos de adhesión externa atraviesa la membrana y está unida en el interior de la célula con filamentos fuertes del citoesqueleto. De esta manera, los filamentos del citoesqueleto forman una red que se extiende de una célula a otra a través de toda la capa epitelial.

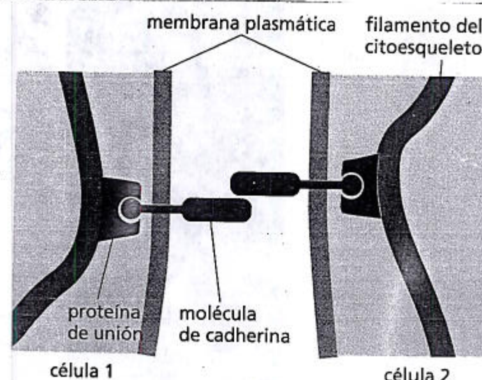


Figura 20-24. Las moléculas de cadherina median la unión mecánica entre las células. Dos moléculas de cadherina similares presentes en las membranas plasmáticas de células adyacentes se unen entre sí fuera de las células; dentro de las células se adhieren con los filamentos del citoesqueleto –sea actina o queratina– a través de proteínas de unión. Cuando las células entran en contacto, sus cadherinas se concentran en el punto de adherencia (Película 20.2).

Las uniones adherentes y los desmosomas se forman alrededor de proteínas transmembrana que pertenecen a la familia de las **cadherinas**: una molécula de cadherina presente en la membrana plasmática de una célula se une en forma directa con una molécula de cadherina idéntica situada en la membrana plasmática de la célula vecina (Fig. 20-24). Esta clase de unión se denomina *homófila*. En el caso de las cadherinas, la unión también requiere Ca^{2+} en el medio extracelular, lo que determina el nombre de la molécula.

En una **unión adherente** cada molécula de cadherina está anclada al interior de la célula con filamentos de actina a través de varias proteínas de conexión. Con frecuencia, las uniones adherentes forman una banda de adhesión continua que rodea cada célula epitelial que interactúa en la unión; este cinturón se localiza cerca del extremo apical de la célula, justo por debajo de las uniones estrechas (Fig. 20-25). En consecuencia, los filamentos de actina conectan las células a través de todo el epitelio. Esta red de actina puede contraerse y otorga a la capa epitelial la capacidad de desarrollar tensiones y de cambiar su forma de manera notoria. Por medio del encogimiento de la superficie apical a lo largo de un eje, la lámina se puede plegar y transformar en un tubo (Fig. 20-26A). De modo alternativo, si se encoge la superficie apical local a lo largo de ambos ejes al mismo tiempo, la lámina puede desarrollar una concavidad en forma de copa y, en última instancia,

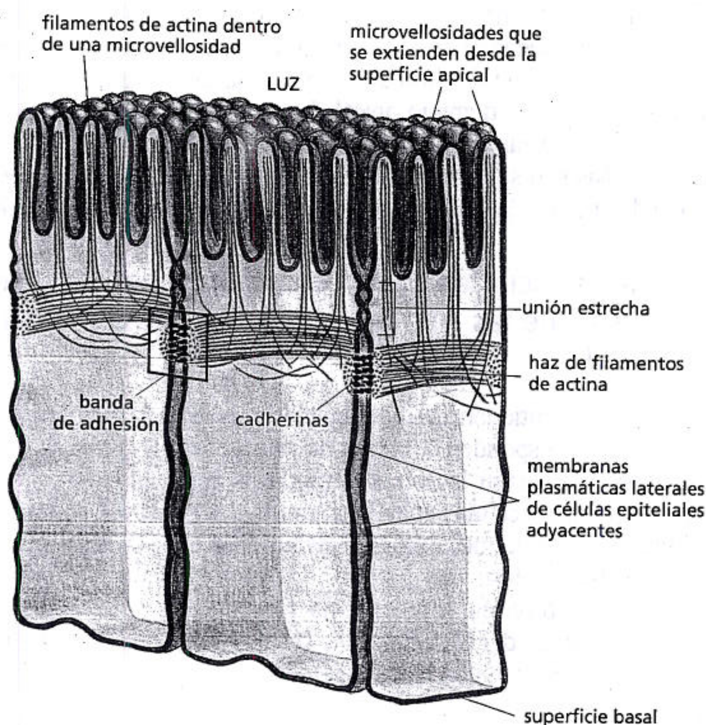
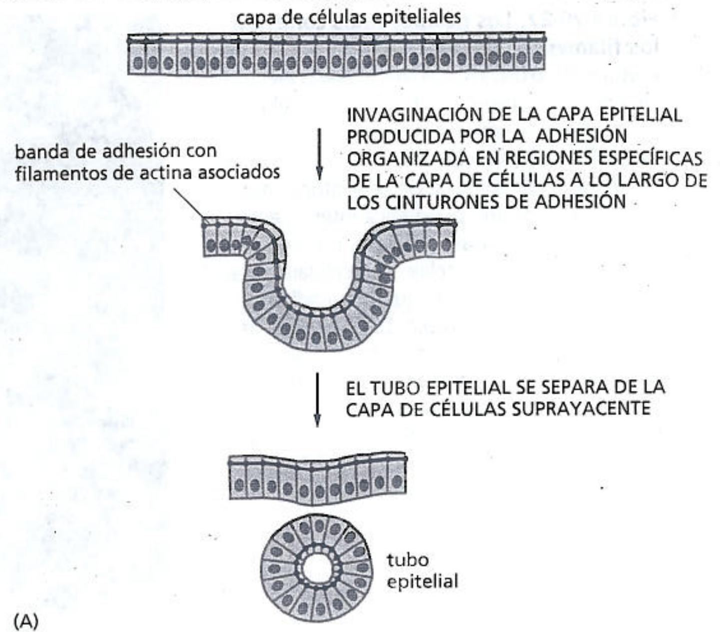


Figura 20-25. Las uniones adherentes forman bandas similares a cinturones alrededor de las células epiteliales en el intestino delgado. Un haz contráctil de filamentos de actina recorre toda la longitud de la superficie citoplasmática de la membrana plasmática cerca de la parte apical de cada célula y estos haces de filamentos de actina presentes en células adyacentes se conectan entre sí a través de moléculas de cadherina que atraviesan las membranas celulares (véase Fig. 20-24).



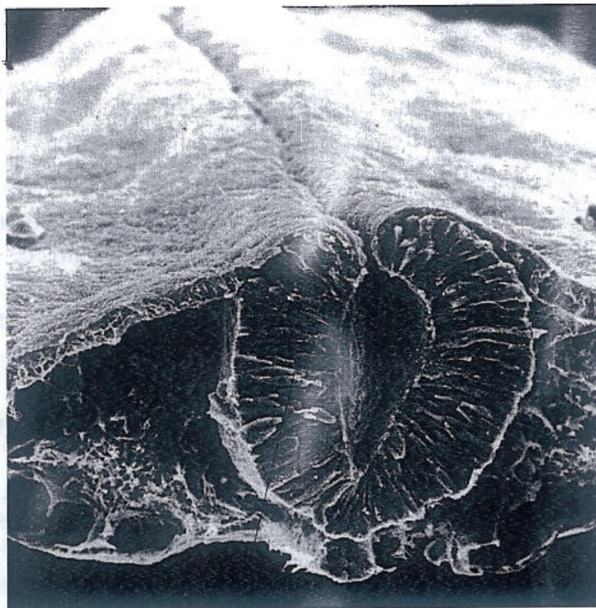




Figura 20-26. Las capas epiteliales pueden plegarse y formar un tubo o una vesícula. (A) Diagrama que muestra la forma en que la contracción de los haces apicales de los filamentos de actina que conectan unas células con otras a través de las uniones adherentes produce el estrechamiento de las porciones apicales de las células epiteliales. De acuerdo con la orientación de la contracción, si es a lo largo de un eje o igual en todas direcciones, el epitelio puede plegarse y formar un tubo o invaginarse y formar una vesícula, respectivamente. (B) Formación del tubo neural; la microfotografía electrónica de barrido muestra un corte transversal a través del tronco de un embrión de pollo de dos días de vida. Parte de la capa epitelial que recubre la superficie del embrión ha aumentado de espesor, se ha plegado formando un tubo debido a la contracción de las superficies apicales y está a punto de transformarse en una estructura interna separada. (C) Formación del cristalino; un parche de epitelio superficial que cubre el esbozo de la retina ocular en el embrión se tornó cóncavo y por último se cerró hasta convertirse en una vesícula separada –la vesícula del cristalino– dentro de la copa ocular. (B, cortesía de Jean-Paul Revel; C, cortesía de K. W. Tosney).

crear una vesícula que puede separarse del resto del epitelio. Estos movimientos epiteliales son importantes para el desarrollo del embrión, en el que producen estructuras como el tubo neural, que origina el sistema nervioso central (Fig. 20-26B) y la vesícula del cristalino, que origina el cristalino del ojo (Fig. 20-26C).

Por el contario, en un **desmosoma**, un conjunto diferente de moléculas de cadherina está anclado a filamentos intermedios dentro de cada célula. Estas cadherinas forman conexiones con los filamentos intermedios –en forma específica a queratinas, que representan el tipo de filamento intermedio hallado en los epitelios (Fig. 20-27)–. Haces gruesos de filamentos gruesos de queratina en forma de cuerdas entrecruzan el citoplasma y están "soldados por puntos" por uniones desmosómicas a los haces de filamentos de queratina de las células adyacentes. Esta disposición confiere gran resistencia a la tensión sobre la capa epitelial y es característica de los epitelios resistentes que se exponen al ambiente, como la epidermis de la piel.

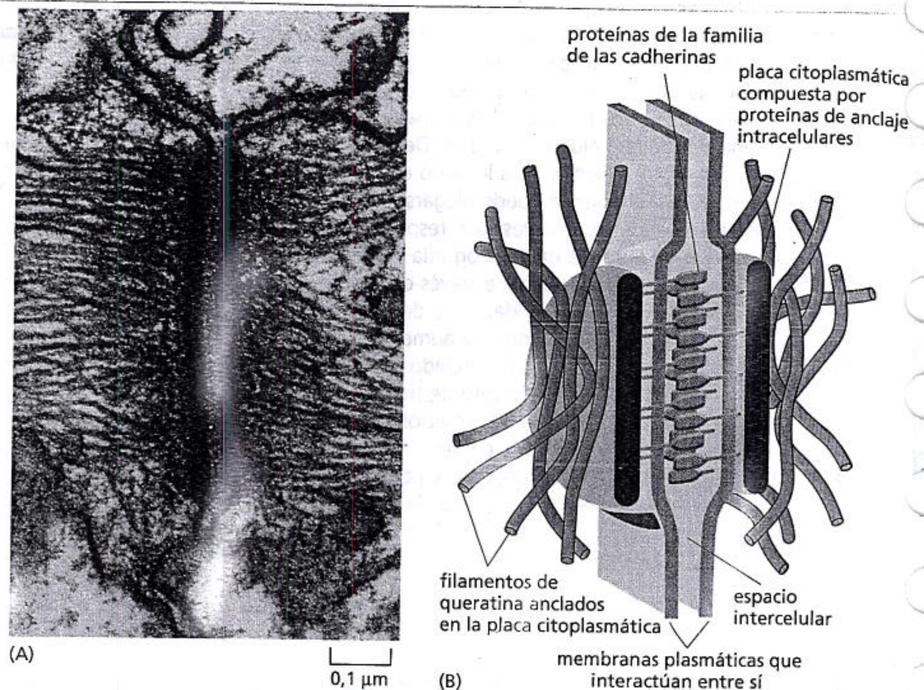


Figura 20-27. Los desmosomas conectan los filamentos de queratina de una célula con los de otra. (A) Microfotografía electrónica de un desmosoma que une dos células en la epidermis de un tritón con la inserción de los filamentos de queratina. (B) Esquema de un desmosoma. En la superficie citoplasmática de cada membrana plasmática interviniente hay una placa densa compuesta por una mezcla de proteínas de anclaje intracelulares. Hay un haz de filamentos de queratina adherido a la superficie de cada placa. Las proteínas de adhesión transmembrana de la familia de las cadherinas se unen a la cara externa de cada placa e interactúan a través de sus dominios extracelulares manteniendo unidas las células adyacentes. (A, de D. E. Kelly, *J Cell Biol* 28:51-72, 1966. Con autorización de Rockefeller University Press).

Las ampollas que se desarrollan en la piel constituyen un recuerdo doloroso de que la unión estrecha entre las células epiteliales no es suficiente: también deben estar ancladas al tejido subyacente. Como se explicó antes, el anclaje depende de proteínas integrinas presentes en la membrana plasmática basal de las células epiteliales. En el exterior, estas integrinas se unen a la proteína laminina de la matriz extracelular de la lámina basal; dentro de la célula se conectan con los filamentos de queratina y forman una estructura que a grandes rasgos se asemeja a la mitad de un desmosoma. En consecuencia, estas adherencias de las células epiteliales en la matriz extracelular subyacente se denominan **hemidesmosomas** (Fig. 20-28).

PREGUNTA 20-4

Los sitios de contacto focales descritos en el capítulo 17 son análogos de los hemidesmosomas y también corresponden a las áreas donde las células se adhieren en la matriz extracelular. Estas uniones son más notables en los fibroblastos, pero casi no aparecen en las células epiteliales. En cambio, los hemidesmosomas predominan en las células epiteliales y están ausentes en los fibroblastos. En los sitios de contacto focales las conexiones intracelulares están compuestas por filamentos de actina, mientras que en los hemidesmosomas las conexiones corresponden a filamentos intermedios. ¿Cómo explicaría que estos dos tipos celulares distintos se unan de manera diferente a la matriz extracelular?

Las uniones comunicantes (gap) permiten el pasaje de iones y de moléculas pequeñas de una célula a otra

El último tipo de unión entre las células epiteliales, que aparece en casi todos los epitelios y en muchas otras clases de tejidos, cumple un propósito completamente diferente y se denomina **unión comunicante (*gap*)**. Con el microscopio electrónico se observa una región en la que las membranas de dos células se encuentran en contacto estrecho y exactamente paralelas con un espacio muy angosto (de 2 a 4 nm) entre ellas (Fig. 20-29A). Este espacio no está vacío sino que se halla atravesado por los extremos sobresalientes de muchos complejos proteicos idénticos que se encuentran en las membranas plasmáticas de las dos células yuxtapuestas. Estos complejos, denominados *conexones*, forman canales que atravie-

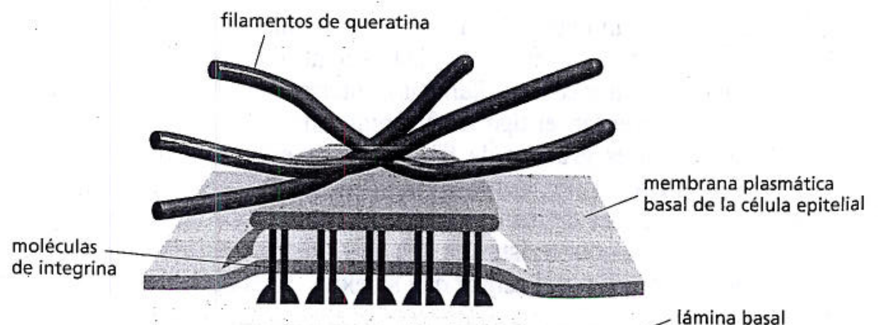


Figura 20-28. Hemidesmosomas que anclan los filamentos de queratina de una célula epitelial a la lámina basal. La unión es mediada por proteínas integrinas.

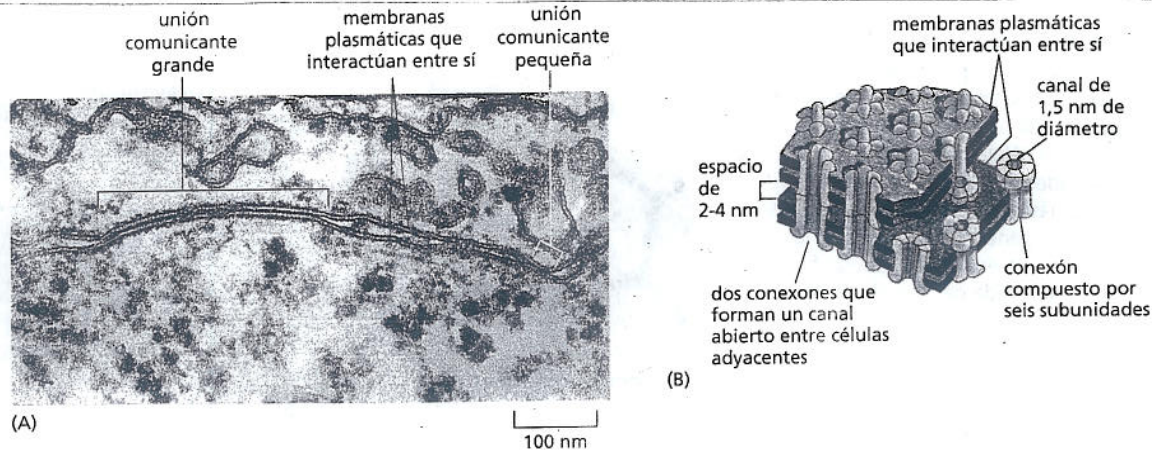


Figura 20-29. Las uniones comunicantes proporcionan una línea de comunicación directa entre células vecinas. (A) Microfotografía electrónica de un corte delgado de una unión comunicante entre dos células que proliferaron en cultivo. (B) Modelo de unión comunicante. La ilustración muestra las membranas plasmáticas de ambas células adyacentes que interactúan entre sí. Las bicapas lipídicas yuxtapuestas (*rojo*) poseen ensamblados proteicos denominados *conexones* (*verde*) que las atraviesan y se cree que cada complejo proteico está formado por seis subunidades proteicas idénticas. Dos conexones se unen a través del espacio intercelular y forman un canal acuoso que conecta las dos células. (A, de N. B. Gilula, en Cell Communication [R. P. Cox, ed.], pp. 1-29, New York: Wiley, 1974. Con autorización de John Wiley & Sons, Inc.).

san las dos membranas plasmáticas, con ambos extremos alineados generando túneles angostos que permiten el pasaje de iones inorgánicos y pequeñas moléculas hidrosolubles (de hasta 1.000 daltons de peso molecular) que se desplazan directamente desde el citosol de una célula al citosol de la otra (Fig. 20-29B). Esto crea un acoplamiento eléctrico y metabólico entre las células. Las uniones comunicantes entre las células musculares cardíacas, por ejemplo, determinan el acoplamiento eléctrico que permite la diseminación de las ondas eléctricas de excitación a través de todo el tejido. Estas ondas de activación inducen la contracción coordinada de las células y de esta manera producen un latido cardíaco regular.

Las uniones comunicantes de muchos tejidos pueden abrirse o cerrarse según necesidad en respuesta a señales extracelulares. Por ejemplo, el neurotransmisor dopamina reduce la comunicación en la unión comunicante presente en una clase de neurona de la retina en respuesta al aumento de la intensidad de la luz (Fig. 20-30). Esta disminución de la permeabilidad de la unión comunicante modifica el patrón de señalización eléctrica y ayuda a la retina a pasar del uso de los fotorreceptores bastones, que son buenos detectores cuando hay poca luz, al empleo de los fotorreceptores conos, que detectan los colores y los detalles precisos cuando la luz es brillante.

Es interesante señalar que aunque los tejidos vegetales carecen de todos los otros tipos de uniones intercelulares descritos poseen un equivalente funcional de la unión comunicante. Los citoplasmas de las células vegetales adyacentes se conectan a través de canales comunicantes diminutos, denominados **plasmodesmos**,

PREGUNTA 20-5

Las uniones comunicantes (*gap*) son estructuras dinámicas que, al igual que los canales iónicos convencionales, poseen puertas que pueden cerrarse a causa de un cambio de conformación reversible en respuesta a modificaciones de la célula. Por ejemplo, la permeabilidad de las uniones comunicantes disminuye en cuestión de segundos cuando aumenta la concentración intracelular de Ca^{2+}. Trate de explicar la razón por la que esta forma de regulación podría ser importante para la salud de un tejido.

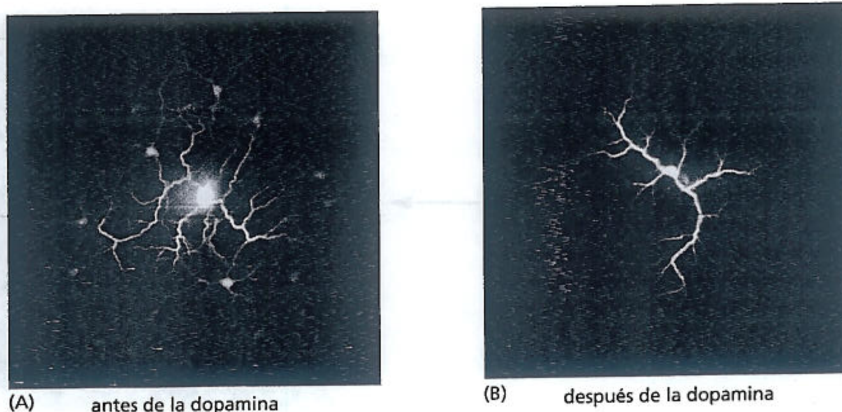


Figura 20-30. Las señales extracelulares pueden regular el acoplamiento de las uniones comunicantes. (A) Se inyectó el colorante amarillo Lucifer, que atraviesa con facilidad las uniones comunicantes, en una neurona de la retina de conejo. El colorante marca las neuronas del mismo tipo que están conectadas por uniones. (B) Primero se trató la retina con el neurotransmisor dopamina, luego se inyectó el amarillo Lucifer. Como puede observarse, el tratamiento con dopamina disminuyó en gran medida la permeabilidad de las uniones comunicantes. (Cortesía de David Vaney).

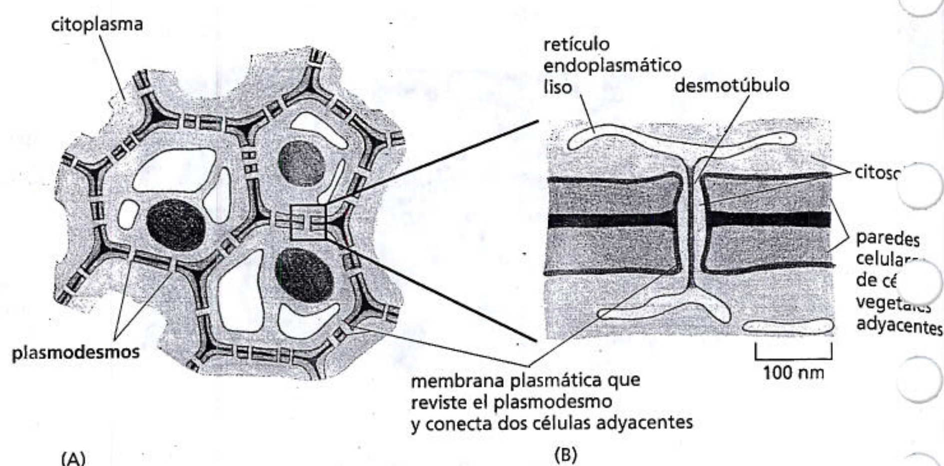


Figura 20-31. Las células vegetales están conectadas a través de plasmodesmos. (A) Los canales citoplasmáticos de los plasmodesmos atraviesan la pared celular vegetal y conectan todas las células de la planta. (B) Cada plasmodesmo está cubierto por una membrana plasmática común a las dos células conectadas. Por lo general, el plasmodesmo también contiene una estructura tubular fina, el desmotúbulo, derivada del retículo endoplasmático liso.

que atraviesan las paredes celulares interpuestas (Fig. 20-31). A diferencia de los canales de las uniones comunicantes, los plasmodesmos son canales citoplasmáticos recubiertos por membrana plasmática; por lo tanto, el citoplasma en l[illegible] vegetales es, en principio, continuo desde una célula a la siguiente. Los iones, las moléculas pequeñas e incluso macromoléculas como algunas proteínas [illegible] microRNA pueden atravesar los plasmodesmos, y el tránsito regulado de los reg[illegible]ladores de la transcripción de una célula a la otra es importante en el desarrollo de la planta.

MANTENIMIENTO Y RENOVACIÓN DE LOS TEJIDOS

No es posible contemplar la organización de los tejidos sin preguntarse cómo [illegible] desarrollan estas estructuras tan bien organizadas. Esta cuestión desencadena una de las preguntas más antiguas y básicas de la biología: ¿cómo se forma [illegible] organismo multicelular a partir de un solo óvulo fecundado?

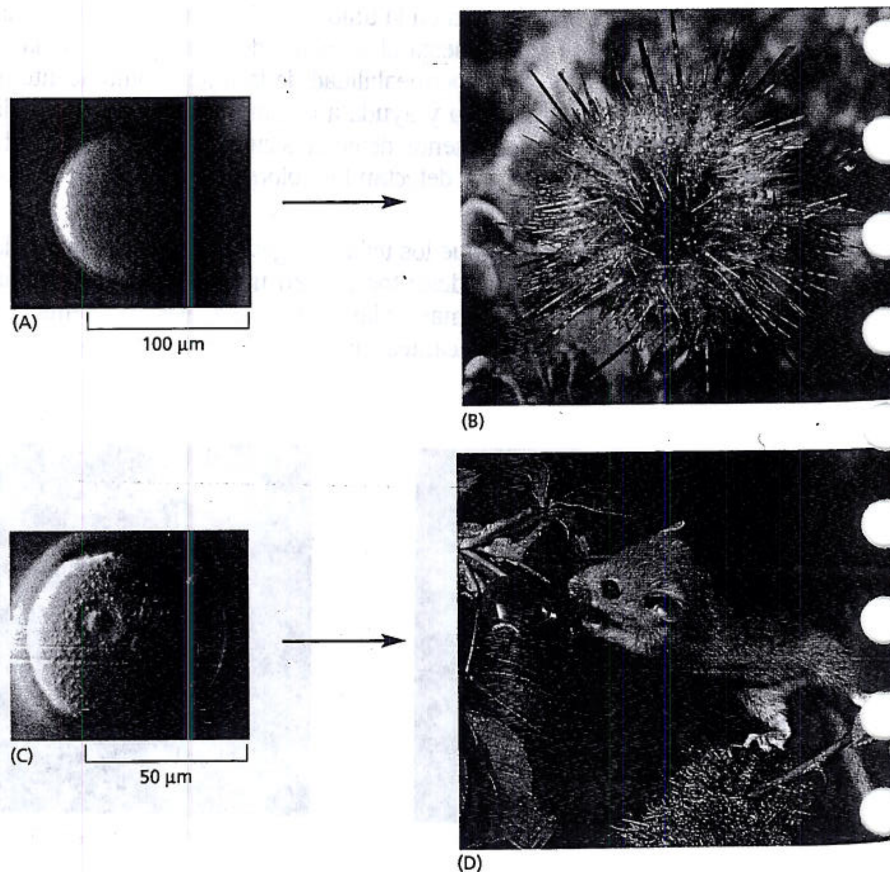


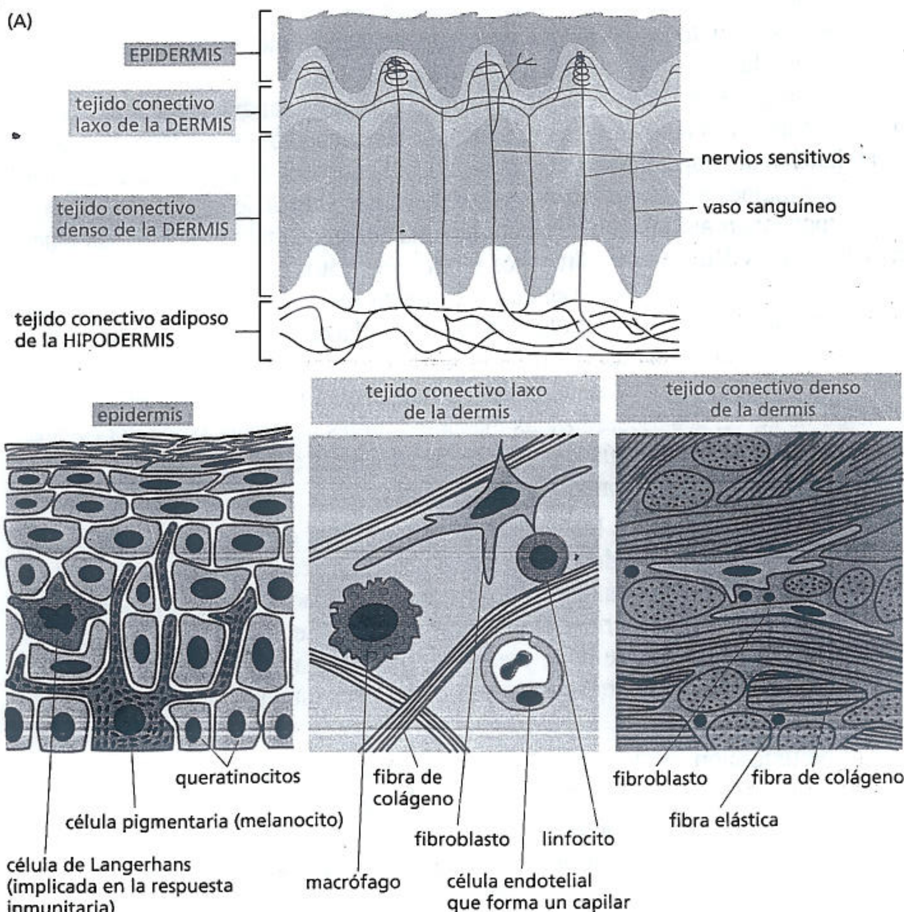
Figura 20-32. El genoma del huevo determina la estructura del clon de células que se desarrollarán a partir de él. (A y B) Un huevo de erizo de mar origina un erizo de mar; (C y D) un huevo de ratón origina un ratón. (A, cortesía de David McClay; B, cortesía de M. Gibbs, con autorización de Oxford Scientific Films; C, cortesía de Patricia Calarco, de G. Martin, *Science* 209:768-776, 1980; D, cortesía de O. Newman, con autorización de Oxford Scientific Films).

En el proceso del desarrollo la célula huevo se divide muchas veces formando un clon de alrededor de 10.000.000.000.000 de células en el ser humano, todas con el mismo genoma pero especializadas en formas diferentes. Este clon tiene una estructura y puede adquirir la forma de una margarita o de un roble, de un erizo de mar, de una ballena o de un ratón (Fig. 20-32). La estructura depende del genoma que contiene el huevo. La secuencia lineal de nucleótidos de A, G, C y T presente en el DNA determina la producción de distintos tipos celulares y cada uno de ellos expresa grupos de genes diferentes y se organiza en forma de patrones tridimensionales precisos e intrincados.

Aunque la estructura definitiva del cuerpo de un animal puede ser muy compleja, se produce por medio de un repertorio limitado de actividades celulares. En páginas anteriores de este libro se comentaron ejemplos de todas estas actividades. Las células crecen, se dividen y mueren; forman adherencias mecánicas y utilizan energía que les permite moverse. Las células se diferencian mediante la activación o la inactivación de la producción de grupos específicos de proteínas; producen señales moleculares que influyen sobre las células vecinas y responden a las señales enviadas por ellas; recuerdan los efectos de las señales recibidas con anterioridad y se especializan en forma progresiva de acuerdo con las características que adoptan. El genoma, que es idéntico en todas las células, define las reglas que determinan la participación en las diversas actividades posibles. Por medio de su actividad en cada célula, el genoma en forma individual puede guiar el proceso complejo por el cual se produce un organismo multicelular a partir de un óvulo fecundado (Películas 1.1, 20.3 y 20.4).

Para los biólogos especializados en el desarrollo, el desafío consiste en explicar en estos términos la secuencia completa de eventos entrelazados que conducen a que el huevo se convierta en un organismo adulto. No intentaremos formular una respuesta a este problema: no tenemos espacio para hacerlo en forma adecuada, aun-

Figura 20-33. La piel de los mamíferos está compuesta por una combinación de tipos celulares. (A) Esquema que muestra la estructura celular de la piel gruesa. (B) Fotografía de un corte transversal de la planta de un pie humano teñido con hematoxilina y eosina. La piel puede considerarse un gran órgano compuesto por dos tipos principales de tejidos: tejido epitelial (la *epidermis*), que se localiza en la superficie más externa, y tejido conectivo, compuesto por la *dermis* resistente (a partir de la cual se produce el cuero) y la *hipodermis* adiposa subyacente. Cada tejido está compuesto por varios tipos celulares. La dermis y la hipodermis están muy irrigadas e inervadas. Algunas fibras nerviosas también se extienden al interior de la epidermis.



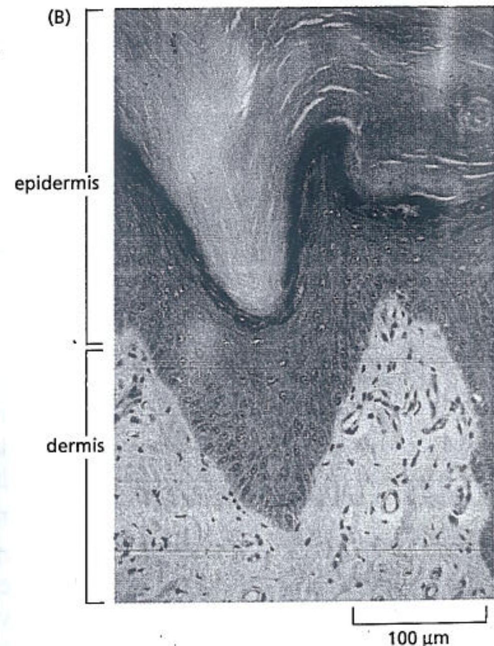
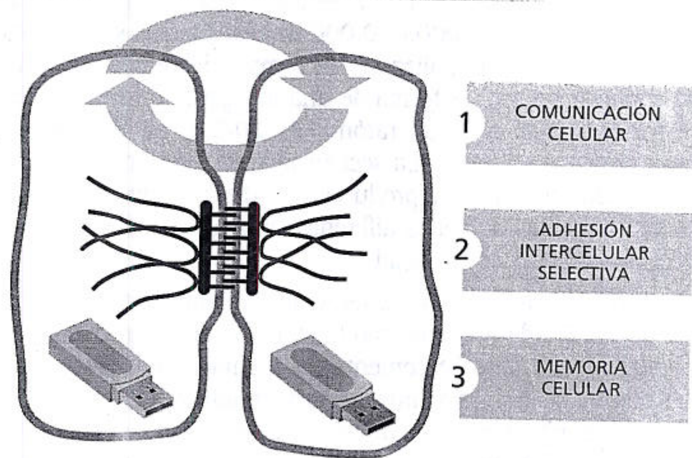


Figura 20-34. Hay tres factores clave que mantienen la organización celular de los tejidos.



que en la actualidad se conoce gran parte del proceso. Sin embargo, diremos que las mismas actividades básicas que se combinan y crean un organismo durante el desarrollo continúan en funcionamiento en el organismo adulto, en el que se producen células nuevas en forma constante de acuerdo con patrones controlados de manera precisa. En esta sección analizaremos este tema en forma más limitada y nos concentraremos en la organización y el mantenimiento de los tejidos de los vertebrados.

Los tejidos son combinaciones organizadas de muchos tipos celulares

Aunque los tejidos especializados de nuestro organismo difieren en muchos aspectos, todos cumplen ciertos requisitos básicos, por lo general desarrollados por una combinación de tipos celulares, como se ilustra respecto de la piel en la **Fig. 20-33**. Como se describió, todos los tejidos necesitan resistencia mecánica, la que a menudo es aportada por un tejido de sostén o por un marco de tejido conectivo que contiene fibroblastos. En este tejido conectivo los vasos sanguíneos revestidos por células endoteliales abastecen las necesidades de transporte de oxígeno, nutrientes y eliminación de desperdicios. Del mismo modo, la mayoría de los tejidos están inervados por axones de células nerviosas rodeados por vainas de células de Schwann que proporcionan aislamiento eléctrico. Los macrófagos eliminan las células muertas y los demás detritos, y los linfocitos y otros leucocitos combaten las infecciones. La mayor parte de estos tipos celulares se origina fuera del tejido y lo invade, sea en una fase temprana del desarrollo (células endoteliales, axones de las células nerviosas y células de Schwann) o en forma continua durante toda la vida (macrófagos y otros leucocitos). Este sistema de soporte complejo es necesario en el mantenimiento de las células especializadas más importantes del tejido, como por ejemplo las células contráctiles del músculo, las células secretoras de las glándulas o las células de la médula ósea que forman la sangre.

Por consiguiente, casi todos los tejidos constituyen una combinación compleja de muchos tipos celulares que deben conservar sus diferencias mientras coexisten en el mismo ambiente. Además, en casi todos los tejidos adultos las células mueren y se renuevan en forma permanente; durante todo este período de reposición y renovación de las células se debe preservar la organización del tejido. Hay tres factores principales que contribuyen a posibilitar esta estabilidad estructural (**Fig. 20-34**).

1. Comunicación celular: cada tipo de célula especializada controla en forma continua su entorno en busca de señales provenientes de otras células y adapta su comportamiento en consecuencia; de hecho, la supervivencia de la mayoría de las células depende de estas señales sociales (comentadas en el capítulo 16). Estas comunicaciones aseguran la producción y la supervivencia de células nuevas sólo cuando son necesarias.

2. Adhesión intercelular selectiva: como los distintos tipos celulares poseen cadherinas y otras moléculas de adhesión en sus membranas plasmáticas, tienden a unirse con otras células del mismo tipo en forma selectiva por medio de uniones homófilas. Las células también pueden presentar adherencias selectivas con otros tipos celulares o con componentes específicos de la matriz extracelular. La selectividad de la adhesión impide la combinación caótica de los diferentes tipos celulares que componen un tejido.
3. Memoria celular: como se explicó en el capítulo 8, los patrones especializados de expresión de genes, activados por señales que actúan durante el desarrollo embrionario, se mantienen en forma estable a lo largo de la vida de modo que las células preservan su naturaleza específica en forma autónoma y la transmitan a su descendencia. Los fibroblastos se dividen y producen más fibroblastos, las células endoteliales se dividen y producen más células endoteliales y así sucede con todos los demás tipos celulares. Este principio, junto con otros procesos que explicaremos luego, preserva la diversidad de tipos celulares en los tejidos.

PREGUNTA 20-6

¿Por qué la radiación ionizante detiene la división celular?

Los diferentes tejidos se renuevan a velocidades distintas

Las células que forman los tejidos tienen velocidades y patrones de recambio muy diferentes. En un extremo se encuentran las células nerviosas, la mayoría de las cuales duran toda la vida del individuo sin ser sustituidas. En el otro extremo se hallan las células que revisten el intestino, las que son reemplazadas cada pocos días. Entre estos dos extremos existe un amplio espectro de diferentes velocidades y formas de reposición celular y de renovación tisular. Por ejemplo, en los seres humanos el hueso posee un tiempo de recambio de alrededor de 10 años, que implica la renovación de la matriz y de las células: un grupo de células denominadas *osteoclastos* degrada la matriz ósea antigua con lentitud (en forma parecida a los macrófagos) mientras otro grupo de células, los *osteoblastos*, deposita matriz nueva de manera similar a los fibroblastos. En la médula ósea humana se producen en forma continua eritrocitos nuevos (a partir de otra clase de células) que se liberan en la circulación, de donde se eliminan y destruyen después de 120 días. En la piel, las capas externas de la epidermis se descaman de manera constante y son sustituidas por células de las capas inferiores, de forma que la epidermis se renueva con un tiempo de recambio de alrededor de dos meses. Y podríamos mencionar muchos ejemplos más.

Nuestra vida depende de estos procesos de renovación. Una dosis elevada de radiación ionizante bloquea la división celular y detiene la renovación: en pocos días el epitelio del intestino, por ejemplo, se queda sin células y esto determina el desarrollo de la diarrea devastadora con pérdida de agua característica de la enfermedad actínica aguda.

Es claro que en el organismo adulto normal y sano existen mecanismos de control que mantienen en equilibrio la producción y la pérdida celular. Los cánceres se originan a partir de modificaciones de estos controles y permiten que las células proliferen en exceso en los tejidos con capacidad de autorrenovación. Por consiguiente, para comprender el cáncer es importante entender el proceso normal de renovación tisular que el cáncer distorsiona.

Las células madre producen un aporte continuo de células con diferenciación terminal

Muchas de las células diferenciadas que necesitan reposición continua son incapaces de dividirse. Los eritrocitos, las células epidérmicas superficiales, y los enterocitos y las células caliciformes del revestimiento intestinal pertenecen a esta clase. Estas células se denominan células con *diferenciación terminal*: llegaron al punto final de su vía de desarrollo.

La reposición de las células con diferenciación terminal se genera a partir de un depósito de *células precursoras proliferativas* que suelen provenir de pequeñas

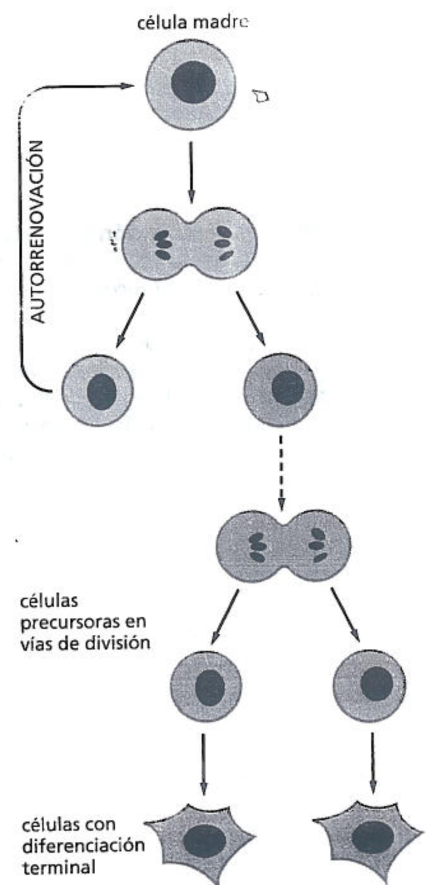


Figura 20-35. Cuando una célula madre se divide, cada célula hija puede permanecer como célula madre o adquirir una diferenciación terminal. Las células con diferenciación terminal suelen desarrollarse a partir de células precursoras que se dividen una cantidad limitada de veces antes de diferenciarse.

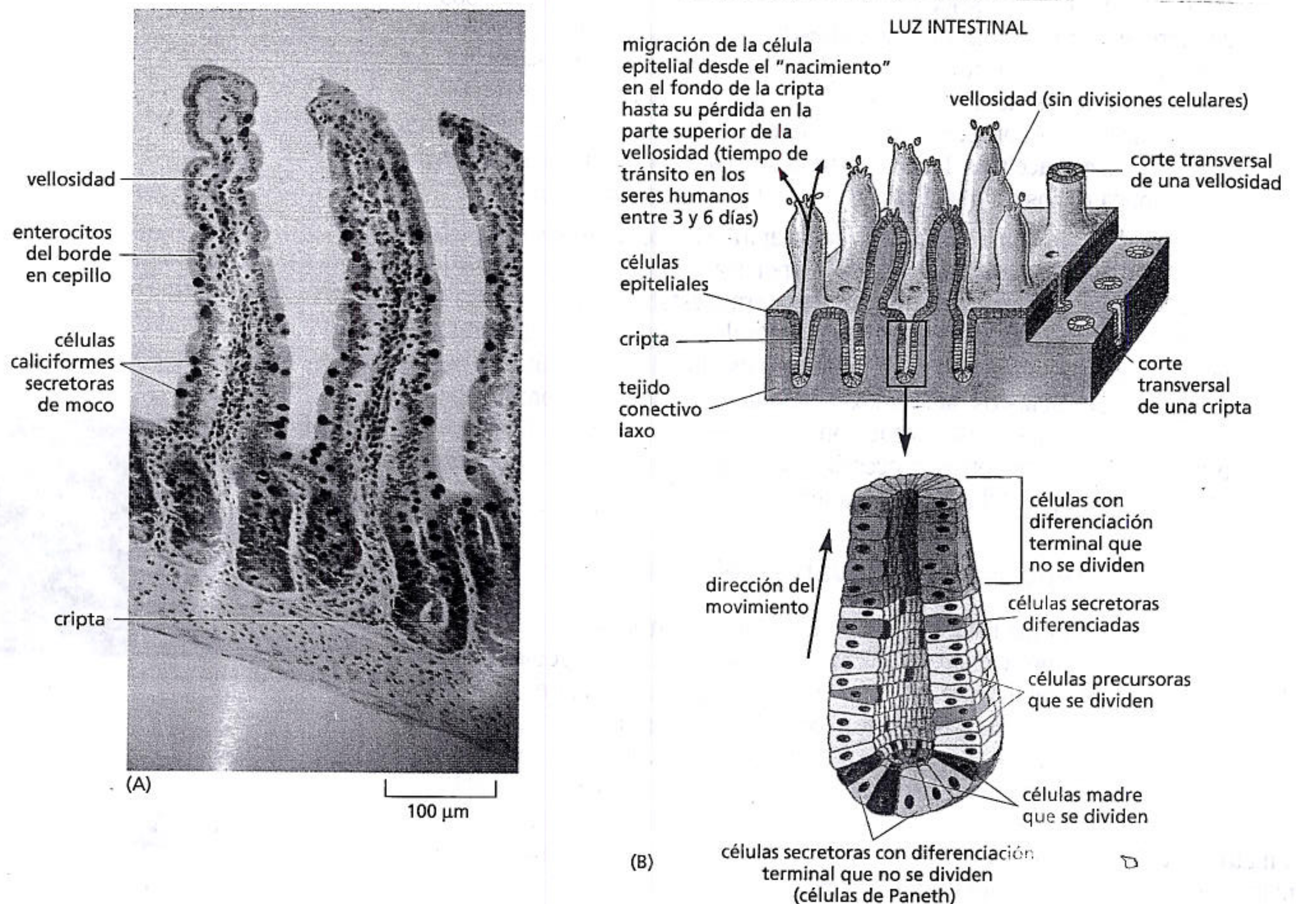


Figura 20-36. La renovación se produce en forma continua en el revestimiento del intestino adulto. (A) Fotografía de un corte de parte del revestimiento del intestino delgado que muestra vellosidades y criptas. Obsérvese la forma en que las células caliciformes secretoras de moco (teñidas de color *violeta*) están entremezcladas entre los enterocitos con borde en cepillo del epitelio de las vellosidades. También hay pequeñas cantidades de otros dos tipos celulares –células enteroendocrinas (no ilustradas) que secretan hormonas intestinales y células de Paneth que secretan proteínas bactericidas– que se originan en las mismas células madre. (B) Ilustración que muestra el patrón de recambio celular y la proliferación de células madre en el epitelio que constituye el revestimiento del intestino delgado. Todos los tipos de células diferenciadas tienen una vida limitada, interrumpida por la muerte celular programada y son reemplazadas en forma continua por el desarrollo de la progenie de las células madre. Se considera que la organización de las vellosidades y las criptas se mantiene por señales provenientes del ambiente de la cripta que determinan que sus células persistan en estado proliferativo, como explicaremos después.

concentraciones de **células madre** que se dividen. Tanto las células madre como las células precursoras proliferativas son retenidas en los tejidos correspondientes junto con las células diferenciadas. Las células madre no presentan diferenciación terminal y pueden dividirse en forma ilimitada (o al menos durante toda la vida del animal). Sin embargo, cuando una célula madre se divide, cada célula hija debe elegir entre permanecer como célula madre o ingresar en una vía irreversible que la conducirá a la diferenciación terminal, por lo general a través de una serie de divisiones celulares precursoras (Fig. 20-35). Por consiguiente, la tarea de la célula madre y de la célula precursora no consiste en desempeñar la función especializada de la célula diferenciada sino en producir estas células. Las células madre suelen acumularse en cantidades pequeñas y a menudo tienen un aspecto sin ninguna característica distintiva, lo que dificulta su identificación. Aunque no poseen diferenciación terminal, las células madre de los tejidos adultos están especializadas: en condiciones normales expresan grupos de proteínas reguladoras de genes que aseguran que la progenie diferenciada pertenezca a los tipos apropiados.

El patrón de recambio celular varía de un tejido a otro en función de la célula madre. Por ejemplo, en el revestimiento del intestino delgado, los enterocitos y las células secretoras (células caliciformes que producen moco, así como otros tipos de células secretoras) están organizados como epitelios simples que recubren las

PREGUNTA 20-7

¿Por qué las células epiteliales que tapizan el intestino se renuevan con frecuencia mientras que la mayoría de las neuronas duran lo que dura la vida del organismo?

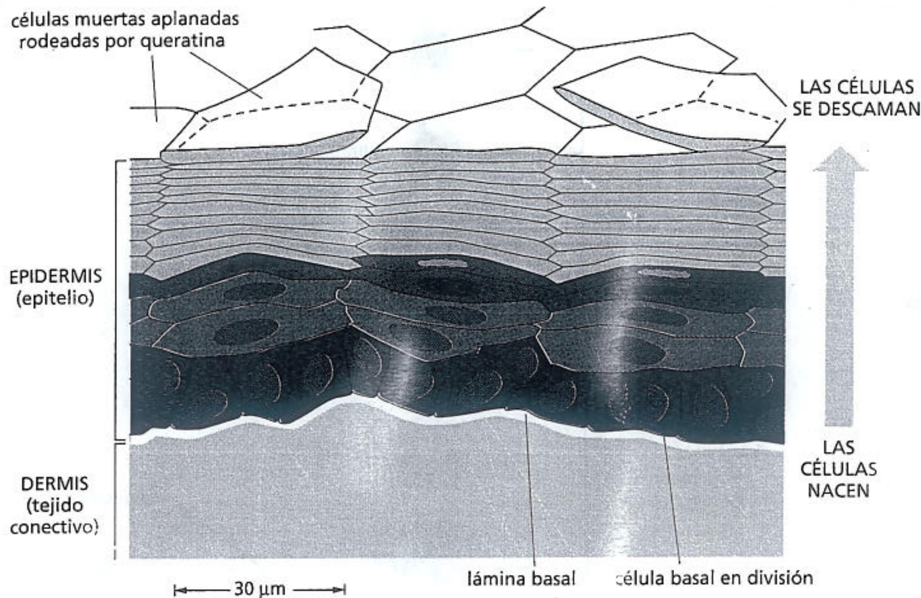


Figura 20-37. La epidermis se renueva a partir de las células madre presentes en su capa basal. La capa basal contiene una combinación de células madre y células precursoras en división que se producen a partir de las células madre. Cuando emergen de la capa basal, las células dejan de dividirse y se desplazan hacia afuera mientras se diferencian. Después, las células sufren una forma especial de muerte: el núcleo se desintegra y la célula se encoge hasta adquirir la forma de una escama aplanada rodeada por queratina. Por último, la escama se desprende de la superficie corporal.

superficies de las vellosidades digitiformes que se proyectan en la luz del intestino. Este epitelio se continúa con el epitelio que reviste las criptas que se introducen en el tejido conectivo subyacente; las células madre se localizan cerca del fondo de las criptas. Los enterocitos y las células caliciformes recién generadas por las células madre comienzan a diferenciarse en las criptas. Casi todas estas células en vías de diferenciación se desplazan hacia arriba por medio de un movimiento deslizante en el plano de la lámina epitelial hasta que alcanzan las superficies expuestas de las vellosidades; en las puntas de las vellosidades mueren y se descaman hacia la luz del intestino (Fig. 20-36).

Un ejemplo antagónico se encuentra en la epidermis, que consiste en un epitelio estratificado con células madre y células precursoras en la capa basal adheridas a la lámina basal; las células en vías de diferenciación se desplazan desde el sitio donde se originan hacia el exterior en dirección perpendicular al plano de la lámina celular (Fig. 20-37).

A menudo un solo tipo de célula madre origina varios tipos de células diferenciadas: las del intestino, por ejemplo, producen enterocitos, células caliciformes y otros tipos de células. El proceso de formación de la sangre, denominado hema-

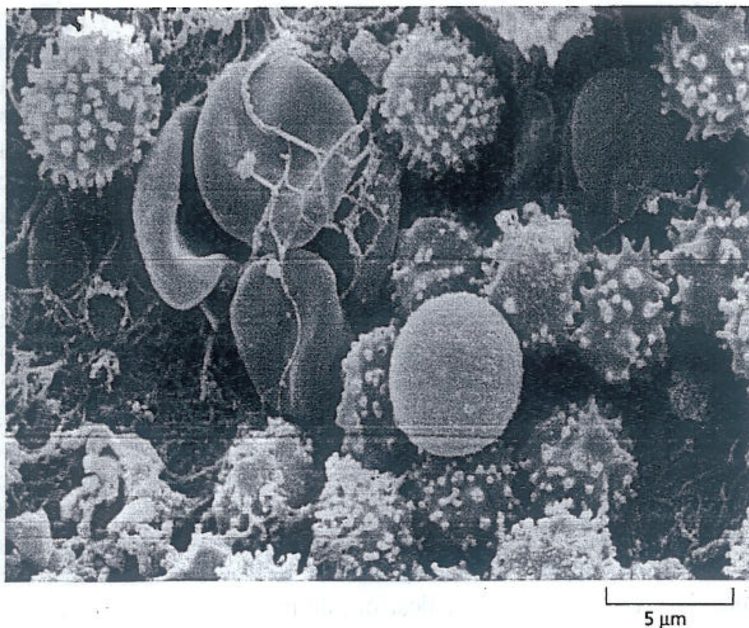


Figura 20-38. La sangre contiene muchos tipos celulares circulantes, todos derivados de una sola clase de célula madre. En esta microfotografía electrónica de barrido las células más esféricas y más grandes con superficie rugosa son los leucocitos; las células aplanadas más pequeñas y lisas son los eritrocitos. (De R. G. Kessel y R. H. Kardon, Tissues and Organs: *A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy*. San Francisco: Freeman, 1979. Con autorización de W. H. Freeman and Company).

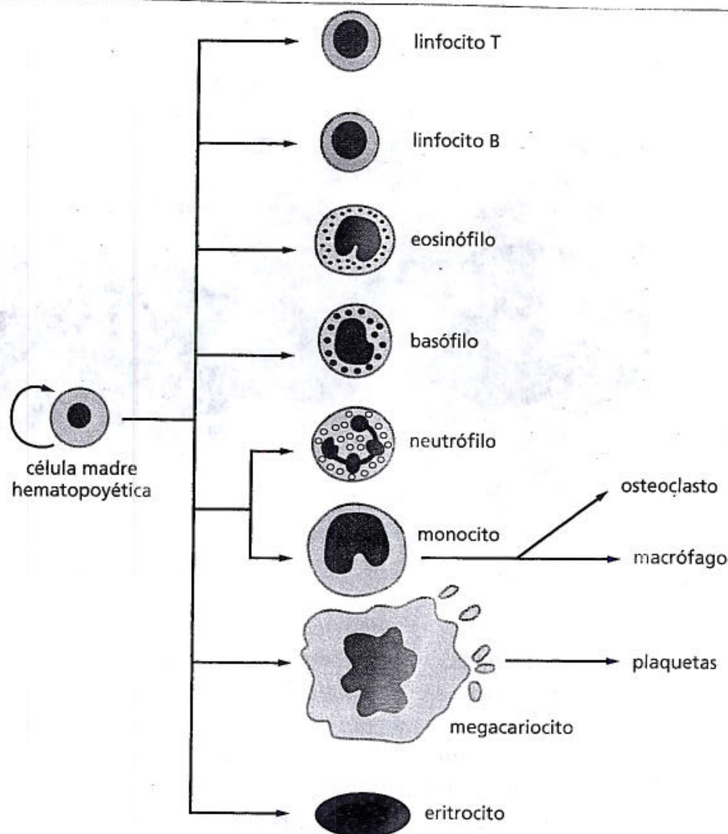


Figura 20-39. Una célula madre hematopoyética se divide y produce más células madre y células precursoras (no ilustradas) que proliferan y se diferencian en los tipos de células sanguíneas maduras que se detectan en la circulación. Los macrófagos hallados en muchos tejidos del cuerpo y los osteoclastos que digieren la matriz ósea tienen el mismo origen, así como otros tipos de células tisulares no ilustrados en este esquema. Los megacariocitos dan origen a las plaquetas (Película 20.5). Se sabe que una gran cantidad de moléculas de señalización diferentes actúan en varios puntos de este linaje celular controlando la producción de cada tipo de célula y manteniendo una cantidad apropiada de células madre.

topoyesis, representa un ejemplo extremo de este fenómeno. Todos los tipos celulares diferentes presentes en la sangre –tanto los eritrocitos, que transportan oxígeno, como muchas clases de leucocitos, que combaten las infecciones (Fig. 20-38)– provienen en definitiva de una célula madre hematopoyética que en condiciones normales reside en la médula ósea (Fig. 20-39).

Señales específicas mantienen las poblaciones de células madre

Cada sistema de células madre requiere mecanismos de control que asegura que las células nuevas se generen en los lugares apropiados y en las cantidades correctas. Los controles dependen de señales moleculares intercambiadas entre las células madre, su progenie y los tejidos circundantes. Estas señales y las vías bioquímicas a través de las cuales ellas actúan se incluyen en un número sorprendentemente pequeño de familias, que corresponden a unos seis mecanismos de señalización básicos, algunos ya descritos en profundidad en el capítulo 16. Estos escasos mecanismos se usan una y otra vez, en el embrión y en el adulto, en diferentes combinaciones e inducen respuestas distintas en contextos diferentes.

Casi todas estas familias de mecanismos de señalización contribuyen a la tarea de mantener la compleja organización de un sistema de células madre como la del intestino. Por lo tanto, una clase de moléculas señal conocidas como **proteínas Wnt** mantienen las células madre y las células precursoras en la base de cada cripta intestinal en un estado proliferativo: las células en estas regiones secretan proteínas Wnt y expresan los receptores de estas proteínas y, en apariencia por un mecanismo de retroalimentación positiva, se autoestimulan continuando con la división celular (Fig. 20-40). Al mismo tiempo, estas células producen otras señales, que actúan en un rango más extenso evitando la activación de la vía Wnt fuera de las criptas. Las células dentro de la cripta intercambian incluso otras señales que controlan la diversificación, de modo que algunas se diferencian en células secretoras mientras que otras se convierten en enterocitos.

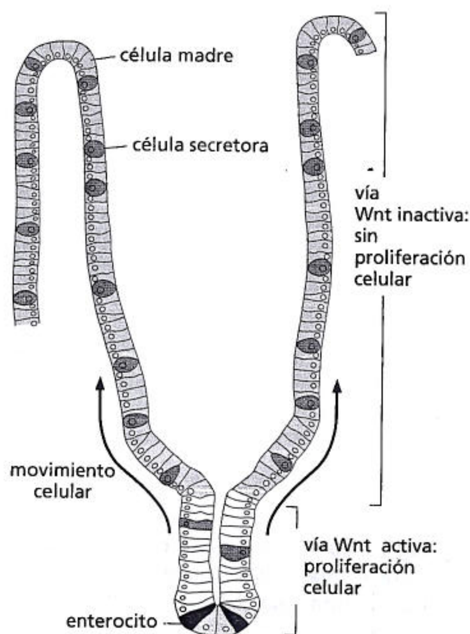


Figura 20-40. La vía de señalización Wnt ayuda a controlar la producción de células diferenciadas a partir de las células madre del intestino. La señalización Wnt mantiene la proliferación en la cripta, donde residen las células madre y la progenie se asigna a diversos destinos.

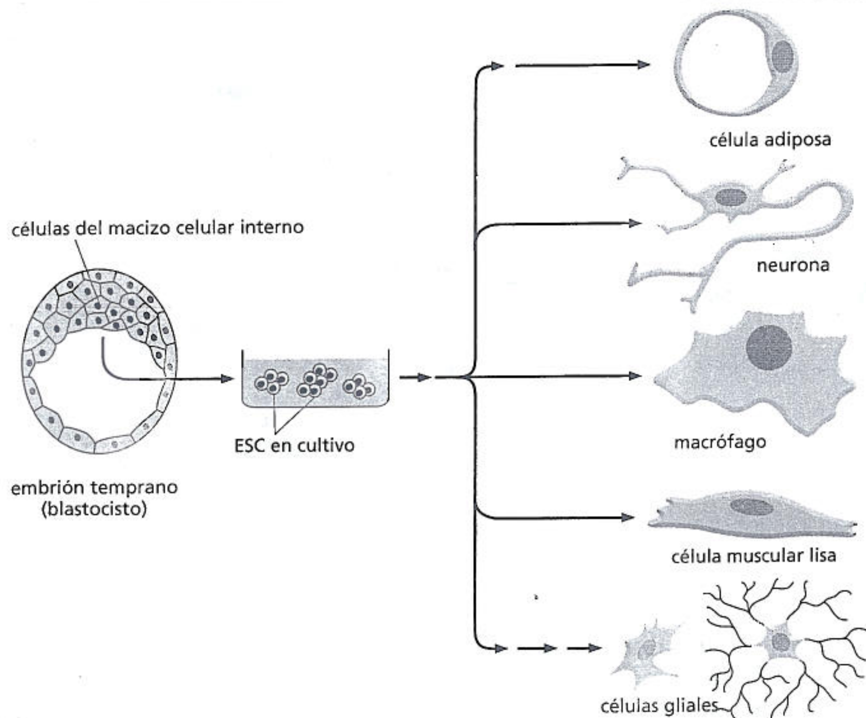


Figura 20-41. Las células madre embrionarias (ESC) provenientes de un embrión pueden originar todos los tejidos y los tipos de células del cuerpo. Las ESC se obtienen del macizo celular interno de un embrión temprano y pueden mantenerse como células madre en cultivo en forma indefinida. Si se vuelven a introducir en un embrión se integran a la perfección y se diferencian adaptándose al ambiente en el que se las coloca. Las células también pueden ser mantenidas en cultivo y nutridas con diferentes hormonas o factores de crecimiento para estimular su diferenciación en tipos celulares específicos (Película 20.6). (Basada en datos de E. Fuchs y J. A. Segré, *Cell* 100:143-155, 2000. Con autorización de Elsevier).

Los trastornos de estos mecanismos de señalización alteran la estructura del revestimiento intestinal. En particular, como se verá después, los defectos en la regulación de la señalización Wnt subyacen en las formas más comunes del cáncer intestinal de los seres humanos.

Las células madre pueden reparar los tejidos dañados

Como las células madre pueden proliferar en forma ilimitada y producir una progenie diferenciada, permiten la renovación continua del tejido normal así como la reparación del tejido perdido debido a una lesión. Por ejemplo, si se transfunden algunas células madre hematopoyéticas en un ratón cuyas propias células madre han sido destruidas por exposición a radiación es posible volver a poblar todo el animal con células sanguíneas nuevas y evitar que muera por anemia, infección o ambos trastornos. Se utiliza un enfoque similar para el tratamiento de la leucemia humana con radioterapia (o fármacos citotóxicos) y a continuación trasplante de médula ósea.

La obtención de células madre a partir de tejidos adultos es promisoria para la reparación de tejidos, pero otro tipo de células madre, identificadas primero a través de experimentos en ratones, podría tener un potencial aun mayor. A través del cultivo celular es posible obtener una clase extraordinaria de células madre, denominadas **células madre embrionarias** (*embryonic stem cells*; **ESC**), a partir de embriones murinos en sus estadios iniciales. En condiciones apropiadas se puede lograr la proliferación indefinida de estas células en cultivo con la conservación del potencial de desarrollo ilimitado y, por lo tanto, se dice que son *pluripotentes*. Si las células contenidas en una placa de cultivo se vuelven a colocar en un embrión temprano pueden dar origen a todos los tejidos y todos los tipos de células del organismo, incluidas las células germinales (Fig. 20-41). Sus descendientes en el embrión son capaces de integrarse a la perfección al sitio que les toque ocupar y de adoptar las características y el comportamiento que presentarán las células normales en ese sitio.

En la actualidad pueden obtenerse células de embriones humanos tempranos con propiedades similares a las ESC de ratón, lo que permite contar con una fuente potencialmente inagotable de células que podrían emplearse para la sustitución y la reparación de tejidos humanos maduros lesionados. Por ejemplo, los experi-

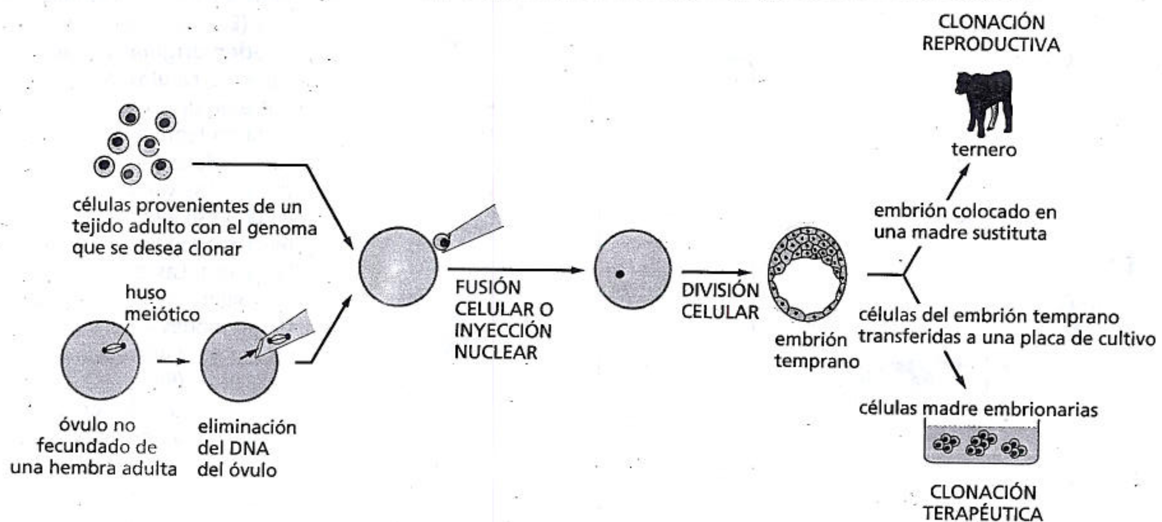


Figura 20-42. Las células del tejido adulto pueden usarse para "clonación", término con dos significados bastante diferentes. En la clonación reproductiva se produce un individuo multicelular nuevo completo; en la clonación terapéutica sólo se producen células. En el enfoque mostrado aquí, ambos procedimientos comienzan con el trasplante nuclear: un núcleo tomado de una célula adulta es transferido al citoplasma de un oocito, de modo que crea una célula que tiene un carácter embrionario pero que porta los genes de la célula adulta.

mientos realizados en ratones sugieren que en un futuro cercano sería posible usar ESC para reemplazar las fibras musculares esqueléticas degeneradas en víctimas de distrofia muscular, las células nerviosas muertas en pacientes con enfermedad de Parkinson, las células secretoras de insulina destruidas en los pacientes con diabetes de tipo I y las células musculares cardíacas perdidas durante un infarto. Tal vez algún día incluso sea posible cultivar órganos enteros a partir de ESC a través de una recapitulación del desarrollo embrionario.

Sin embargo, hay un problema importante asociado con el uso de ESC para reparar tejidos. Si las células trasplantadas son genéticamente diferentes de las células del paciente que recibe el injerto es probable que el sistema inmunitario las rechace y las destruya. Una forma posible de resolver este problema consiste en usar una estrategia conocida en forma coloquial como "clonación terapéutica", que explicaremos a continuación.

La clonación terapéutica podría proporcionar una manera de generar células madre embrionarias personalizadas

El término "clonación" se ha empleado de manera confusa en los últimos tiempos para nombrar varios tipos de procedimientos muy diferentes, en particular en debates públicos acerca de la ética de la investigación con células madre. Es importante entender las diferencias.

De acuerdo con la definición biológica, un clon es un conjunto de individuos idénticos desde el punto de vista genético debido a que provienen de un mismo progenitor. El tipo de clonación más simple es la clonación de células, que implica tomar una sola célula madre epidérmica de la piel y dejarla crecer y dividirse en cultivo para obtener un gran clon de células epidérmicas genéticamente idénticas y después usarlas, por ejemplo, para ayudar a reconstruir la piel de un paciente con quemaduras graves. Este tipo de clonación no es más que una extensión de los procesos de proliferación y reparación celular que se producen en un cuerpo humano normal por métodos artificiales.

La clonación de animales multicelulares enteros, denominada **clonación reproductiva**, es una empresa muy diferente que implica un alejamiento mucho más radical de la evolución natural normal. Como se describió en el capítulo 19, cada animal tiene normalmente una madre y un padre y no es idéntico desde el punto de vista genético a ninguno de los dos. La clonación reproductiva saltea la necesidad de padres y de unión sexual. En los mamíferos esta hazaña difícil se logró en ovejas y en algunos animales domésticos por medio del *trasplante nuclear*. El procedimiento comienza con un oocito. El núcleo de este gameto haploide se elimina por aspiración y en su lugar se introduce un núcleo de una célula diploide común.

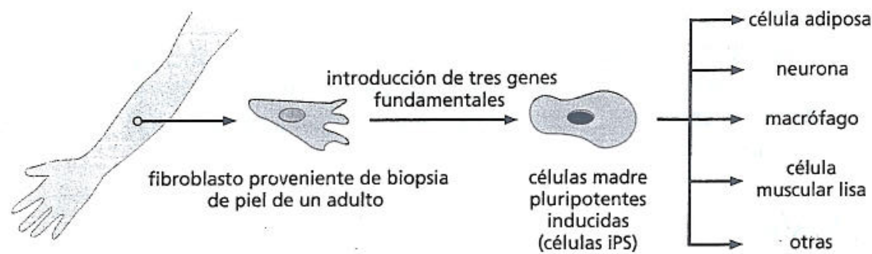


Figura 20-43. Las células madre pluripotentes inducidas (células iPS) pueden generarse por transformación directa de células provenientes de tejidos adultos. Este procedimiento comienza cuando se toman células provenientes de un tejido adulto, en este ejemplo se trata de fibroblastos provenientes de una biopsia de piel, y se las coloca en cultivo. Más tarde, mediante el empleo de virus manipulados en forma genética como vectores, los investigadores introdujeron en estas células versiones artificiales de un conjunto específico de genes que codifican reguladores de la transcripción que normalmente se expresan en las ESC. Estos constructos génicos se expresan en los fibroblastos hospedadores y dirigen la producción de las proteínas correspondientes. Después de algunas semanas de cultivo, algunos de los fibroblastos se han transformado en células que se asemejan y se comportan como las ESC y tienen la misma capacidad de éstas para diferenciarse en cualquiera de los tipos celulares del cuerpo.

La célula diploide donante puede obtenerse, por ejemplo, de un tejido de un individuo adulto. Se permite el desarrollo de la célula híbrida, compuesta por un núcleo diploide de un donante alojado en el citoplasma de un oocito hospedador, durante un período breve en cultivo. En un pequeño porcentaje de casos este cultivo puede originar un embrión temprano, que luego se inserta en el útero de una madre sustituta (Fig. 20-42). Si el experimento tiene éxito, el desarrollo continúa como si se tratara de un embrión normal y, por último, da origen a un nuevo animal completo. Un individuo producido de esta manera, mediante clonación reproductiva, será genéticamente idéntico al individuo adulto que donó la célula diploide (excepto por una pequeña cantidad de información genética presente en las mitocondrias, que se heredan del citoplasma del oocito).

Otro procedimiento, muy diferente del recién descrito, emplea la técnica de trasplante nuclear para producir ESC en cultivo (véase Fig. 20-42). En este caso, el embrión muy temprano compuesto por alrededor de 200 células no se transfiere al útero de una madre sustituta sino que se emplea como fuente para obtener ESC y mantenerlas en cultivo, con el objetivo de producir varios tipos celulares que puedan emplearse para la reparación tisular. Este proceso denominado **clonación terapéutica** es una técnica compleja que permite producir ESC personalizadas en lugar de animales completos. Como las células obtenidas por esta vía son genéticamente idénticas a la célula donante original, pueden injertarse en el adulto del que se obtuvo el tejido donante sin temor al rechazo inmunitario. El trasplante nuclear es muy difícil desde el punto de vista técnico y todavía no ha sido exitoso en oocitos humanos. El procedimiento requiere una provisión de oocitos humanos que tendrían que obtenerse de donantes mujeres y esto origina graves problemas éticos. En realidad, el trasplante nuclear está prohibido en algunos países.

Estos problemas éticos pueden sortearse por un enfoque alternativo, introducido recientemente, en el que las células se toman de un tejido adulto, se hacen crecer en cultivo y se reprograman en un estado similar al de las ESC mediante la introducción artificial de un conjunto específico de genes que utiliza como vectores virus manipulados en forma genética. Los investigadores han encontrado que la expresión de un conjunto de sólo tres genes (denominados *Oct3/4, Sox2* y *Klf4*) es suficiente para convertir fibroblastos en células que poseen prácticamente todas las propiedades de las ESC, incluso la capacidad de diferenciarse de maneras diversas y de contribuir a cualquier tejido (Fig. 20-43). Estas células similares a las ESC se denominan **células madre pluripotentes inducidas (células iPS;** *induced pluripotent stem cells*). Sin embargo, la tasa de conversión es baja, sólo una pequeña proporción de fibroblastos hacen el cambio, y hay graves temores acerca de la seguridad de implantar derivados de estas células infectadas por virus en pacientes. Deben realizarse muchas investigaciones antes de que este enfoque pueda utilizarse para tratar enfermedades humanas.

No obstante, las ESC humanas y, en especial, las iPS prometen ser inmediatamente valiosas en otras formas. Pueden emplearse para generar grandes poblaciones homogéneas de células diferenciadas de un tipo específico en cultivo; y pueden servir para probar los efectos de grandes cantidades de compuestos químicos en la investigación de fármacos nuevos con acciones útiles en un tipo determinado de células humanas. Además, es posible crear células iPS que contengan los genomas de pacientes que sufren de una enfermedad genética dada para descubrir fár-

macos útiles para el tratamiento de esa enfermedad. Estas células también serán de valor para el análisis del mecanismo por el que se produce la enfermedad. Y, a un nivel básico, las manipulaciones de las ESC y las células iPS en cultivo nos ayudaría a comprender algunos de los muchos misterios no resueltos de la biología de las células madre.

CÁNCER

Pagamos un precio muy alto por tener cuerpos que pueden renovarse y repararse por sí. Los mecanismos delicadamente ajustados que controlan estos procesos pueden cometer errores y conducir a alteraciones catastróficas de la estructura corporal. La más importante de las enfermedades asociadas con la renovación tisular es el **cáncer**, que se ubica junto con las enfermedades infecciosas, la desnutrición, la guerra y las cardiopatías como causa importante de muerte entre los seres humanos. Por ejemplo, en Europa y los Estados Unidos una de cada cuatro personas morirá por cáncer.

El cáncer se origina en perturbaciones de las reglas básicas del comportamiento social de las células. Para poder comprender los orígenes y la progresión de la enfermedad y para proyectar tratamientos debemos emplear casi todos los conocimientos disponibles sobre la forma en que funcionan e interactúan las células en los tejidos. A la inversa, gran parte de lo que sabemos sobre biología celular y tisular se descubrió gracias a la investigación relacionada con el cáncer. En esta sección examinaremos las causas y los mecanismos responsables del cáncer, los tipos de alteraciones del comportamiento de las células que contribuyen a su progresión y las formas en que se podrían emplear nuestros conocimientos para derrotar a las células alteradas y evitar, por lo tanto, la enfermedad.

Las células cancerosas proliferan, invaden y generan metástasis

Para mantener el orden a medida que los tejidos corporales crecen y se renuevan, las células individuales deben adaptar su comportamiento a las necesidades del organismo como unidad. La célula debe dividirse cuando se necesitan células nuevas de ese tipo específico y evitar dividirse si no es necesario; debe vivir tanto tiempo como sea apropiado y autodestruirse cuando se requiera su muerte; debe mantener su especialización y debe ocupar el lugar que le corresponde, sin extraviarse en territorios ajenos a su naturaleza.

Por supuesto, en un organismo grande no se produce un daño significativo si una célula altera su comportamiento en una ocasión. En cambio, cuando una célula sufre una alteración genética que le permite sobrevivir y dividirse cuando no debería y producir células hijas que se comportan de la misma manera antisocial se pierde el control de una manera insidiosa y potencialmente devastadora. La organización del tejido y, en definitiva, la del cuerpo como unidad, puede alterarse debido a la presencia de un clon de células anormales que se expande en forma inexorable. Esta catástrofe es el suceso que produce el cáncer.

Las células cancerosas (y su progenie) se definen por dos propiedades heredables: 1) proliferan en contra de las limitaciones normales y 2) invaden y colonizan territorios que en condiciones normales están reservados para otras células (Película 20.7). La combinación de estas dos características determina un peligro mortal. Las células que tienen la primera propiedad (pero no la segunda) proliferan en forma excesiva, pero permanecen agrupadas en una sola masa que produce un tumor; el tumor en este caso se dice que es *benigno* y, por lo general, puede extirparse en forma completa y con márgenes libres por medio de la cirugía. Un tumor es canceroso sólo si sus células tienen la capacidad de invadir los tejidos circundantes; en este caso se dice que es *maligno*. Las células tumorales malignas con esta propiedad invasora pueden separarse del tumor primario, ingresar en el torrente sanguíneo o en los vasos linfáticos y formar tumores secundarios o

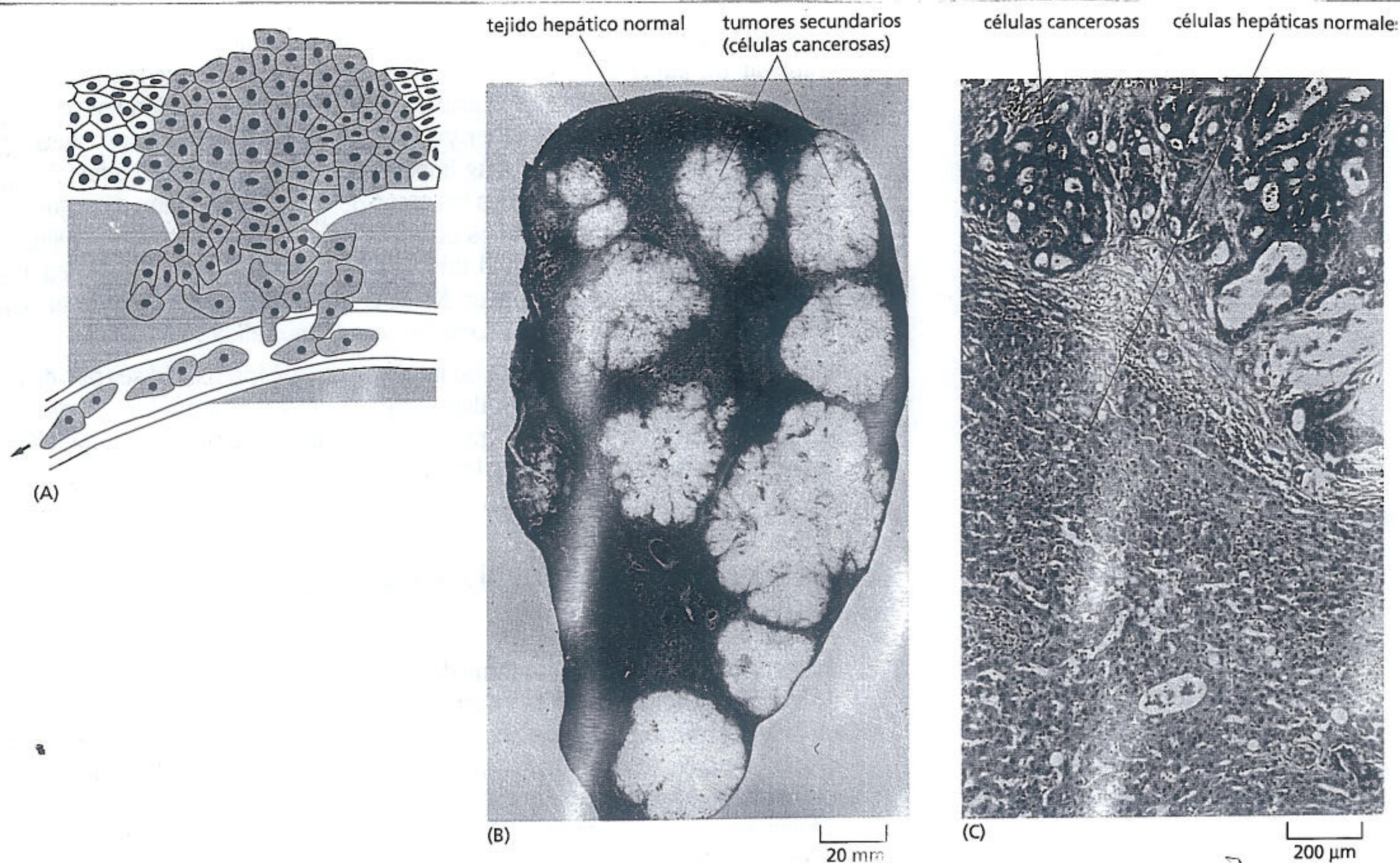


Figura 20-44. El cáncer se disemina e invade tejidos circundantes. (A) Para dar origen a una colonia en un sitio nuevo, las células de un tumor primario típico en un epitelio deben cruzar la lámina basal, migrar a través del tejido conectivo e ingresar en los vasos sanguíneos o linfáticos. Después deben salir del torrente sanguíneo o linfático y establecerse y sobrevivir en un sitio nuevo. (B) Tumores secundarios en un hígado humano que se originó en un tumor primario de colon. (C) Vista con otra tinción y mayor aumento de una de los tumores secundarios para mostrar el contraste entre las células hepáticas normales y las células cancerosas. (B y C, cortesía de Peter Isaacson).

metástasis en otros sitios del cuerpo (Fig. 20-44). Cuanto más se disemina el cáncer más difícil es erradicarlo.

La epidemiología identifica causas prevenibles de cáncer

Prevenir es mejor que curar y para prevenir el cáncer debemos conocer sus causas. ¿Hay factores ambientales o características del estilo de vida que desencadenen la enfermedad y contribuyan a su progresión? Si es así, ¿cuáles son? Las respuestas a estas preguntas pueden obtenerse sobre todo a través de la epidemiología: el análisis estadístico de poblaciones humanas que se emplea para buscar factores relacionados con la incidencia de una enfermedad. Esta disciplina ha aportado evidencias convincentes de que el ambiente cumple una función importante en la producción de la mayoría de los casos de cáncer. Por ejemplo, los tipos de cáncer frecuentes en una población varían de un país a otro y los estudios realizados en individuos que migran demuestran que el riesgo de desarrollar cáncer es determinado por el lugar donde viven las personas y no por el sitio donde han nacido. Aunque todavía resulta difícil descubrir qué factores específicos del ambiente o del estilo de vida son fundamentales para esta enfermedad y muchos aún se desconocen, algunos han sido identificados en forma bastante precisa. Por ejemplo, hace mucho tiempo se observó que el cáncer cervical, originado en el epitelio que reviste el cuello uterino, era mucho más frecuente en mujeres casadas que en mujeres solteras. Esto apuntaba a una causa relacionada con la actividad sexual. Ahora sabemos a través de estudios epidemiológicos modernos que la mayoría de los casos de cáncer de cuello uterino se asocian con la infección del epitelio cervical por ciertos subtipos de un virus común denominado del papiloma humano. Este virus se transmite a través de la relación sexual y en ocasiones, si la paciente es desafortunada, puede producir una proliferación descontrolada de las células infectadas. Con este conocimiento podemos intentar prevenir el cáncer evitando la infección; por ejemplo, por medio de vacunas contra el virus del papiloma humano. Ésta es un área de investigación activa.

Sin embargo, en la gran mayoría de los cánceres humanos los virus no parecen desempeñar un papel importante (el cáncer no es una enfermedad infecciosa), pero la epidemiología revela otros factores. Por ejemplo, la obesidad se relaciona con un aumento del riesgo de cáncer y se sospecha que la relación es causal. Sin embargo, la etiología ambiental más importante de todas es el tabaquismo, que no sólo es responsable de casi todos los casos de cáncer de pulmón sino que además aumenta la incidencia de varios otros tipos de cáncer, como el de vejiga. Se estima que si se pudiera eliminar el tabaquismo se podría prevenir alrededor del 30% de todas las muertes por cáncer. No se conoce otra estrategia o tratamiento que ejerza un impacto tan grande sobre la tasa de mortalidad por cáncer.

Como explicaremos a continuación, no importa con qué intensidad se trate de prevenir el cáncer, nunca se podrá erradicarlo por completo; siempre habrá casos que demanden tratamiento. Para idear tratamientos exitosos es preciso comprender la biología de las células cancerosas y los mecanismos que determinan el crecimiento y la diseminación de los tumores.

El cáncer se desarrolla debido a una acumulación de mutaciones

El cáncer es básicamente una enfermedad genética: se produce como consecuencia de cambios patológicos en la información que porta el DNA. Esta enfermedad difiere de otros trastornos genéticos en que las mutaciones que la producen son, sobre todo, mutaciones somáticas –las que se producen en células individuales del cuerpo maduro– en lugar de mutaciones en la línea germinal, que se producen en las células germinales a partir de las cuales se desarrolla todo el organismo multicelular.

La mayoría de los agentes identificados que se sabe que contribuyen a la etiología del cáncer, como por ejemplo la radiación ionizante y casi todas las sustancias químicas carcinógenas, producen mutaciones: esto significa que ocasionan cambios en la secuencia de nucleótidos del DNA. No obstante, incluso en un ambiente libre de humo de tabaco, radiactividad y todos los demás mutágenos externos que nos preocupan, las mutaciones se producirán en forma espontánea como resultado de las limitaciones existentes en la replicación y en la reparación del DNA (véase capítulo 6). En realidad es probable que los carcinógenos ambientales (no el tabaco) sólo sean responsables de un pequeño porcentaje de las mutaciones asociadas con el cáncer y que la eliminación de todos estos factores de riesgo externos no anule por completo la tendencia a adquirir la enfermedad.

Si bien el DNA se replica y se repara con gran precisión, se produce en promedio un error por cada 10^9 o 10^{10} nucleótidos copiados, como se describió en el capí-

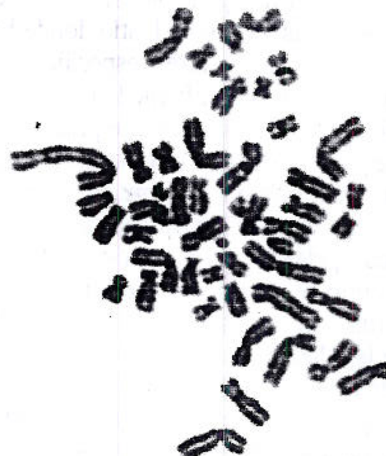




Figura 20-45. Las células cancerosas suelen tener cromosomas muy anormales, lo que refleja la inestabilidad genética. En el ejemplo que se muestra aquí se prepararon los cromosomas a partir de una célula en metafase, provenientes de un cáncer de mama. Los cromosomas se extendieron sobre un portaobjetos y se tiñeron con (A) un colorante general para DNA o (B) una combinación de colorantes fluorescentes que proporcionan un color diferente a cada cromosoma humano. La tinción (que se muestra en colores falsos) muestra muchas translocaciones, p. ej., un cromosoma translocado y duplicado (flecha *blanca*) compuesto por dos fragmentos del cromosoma 8 (*verde*) y un fragmento del cromosoma 17 (*violeta*). Además, el cariotipo contiene 48 cromosomas en lugar de los 46 normales. (Cortesía de Joanne Davidson y Paul Edwards).

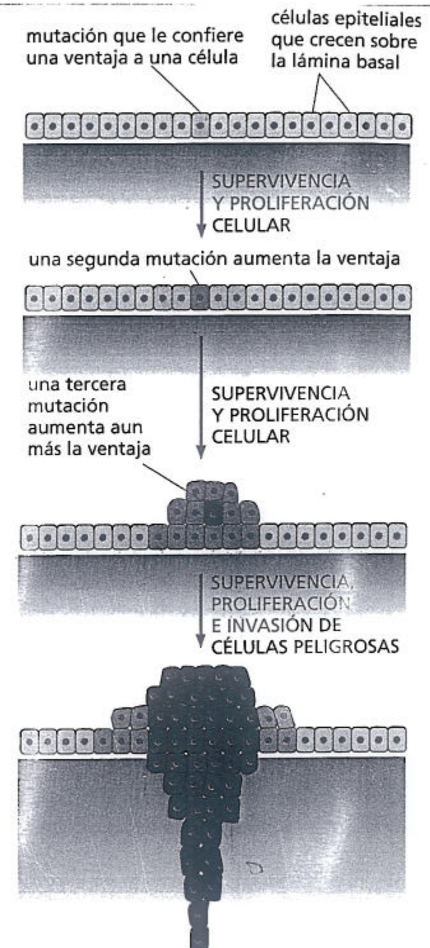


Figura 20-46. Los tumores evolucionan a través del desarrollo de ciclos repetidos de mutación y proliferación. El resultado final es un clon de células cancerosas malignas. En cada paso una sola célula sufre una mutación que aumenta su capacidad proliferativa, de supervivencia o ambas, de manera que su progenie se convierte en el clon dominante en el tumor. Después, la proliferación del clon estimula el desarrollo del siguiente paso en la progresión tumoral al incrementar el tamaño de la población celular expuesta al riesgo de mutaciones adicionales.

tulo 6. Esto significa que las mutaciones espontáneas se desarrollan a una velocidad estimada de alrededor de 10^{-6} o 10^{-7} mutaciones por gen por división celular, incluso en ausencia de estimulación de mutágenos externos. En un cuerpo humano se producen alrededor de 10^{16} divisiones celulares durante toda la vida, por lo tanto, en una persona cada gen individual puede sufrir mutaciones en más de 10^{9} ocasiones diferentes en el transcurso de su vida. Con esto en mente la pregunta principal no parece ser por qué se produce el cáncer sino por qué se desarrolla en forma tan infrecuente.

La explicación es que se necesita más de una mutación única para que una célula normal se transforme en cancerosa. Todavía se discute la cantidad exacta de mutaciones necesarias, pero por cierto este número es mayor de dos o tres. Estas mutaciones no se producen al mismo tiempo sino en forma secuencial, por lo general, durante un período de muchos años.

Por consiguiente, el cáncer es una enfermedad típica de la vejez porque una línea de células tarda mucho tiempo en acumular una gran cantidad de mutaciones (véase Fig. 6-20). En realidad, la mayoría de las células cancerosas humanas no sólo contienen muchas mutaciones sino que además son genéticamente inestables. Esta **inestabilidad genética** es resultado de mutaciones que interfieren sobre la replicación precisa y el mantenimiento del genoma y, en consecuencia, aumentan la tasa de mutaciones en sí. En oportunidades, el aumento de la tasa de mutación es la consecuencia de un defecto en una de las muchas proteínas necesarias para reparar el DNA dañado. Algunas veces, puede haber un defecto en los mecanismos de control que normalmente evitan que una célula con su DNA dañado intente dividirse antes de que se haya completado su reparación (Véase capítulo 18). Otras veces, puede haber un defecto de la maquinaria de la mitosis. Las consecuencias de estos defectos en la manera que la célula cancerosa maneja su DNA suelen manifestarse como roturas y reordenamientos en los cromosomas, que producen un cariotipo inestable con manifestaciones anormales (**Fig. 20-45**).

El cáncer adquiere propiedades que le otorgan una ventaja competitiva

Las mutaciones que conducen al cáncer no inhabilitan a las células mutantes. Por el contrario, les otorgan una ventaja competitiva sobre sus vecinas. Esta ventaja que poseen las células mutantes es nociva para el organismo multicelular como unidad. La selección natural favorece a las células portadoras de mutaciones que aumentan la proliferación y la supervivencia celular, sin importar los efectos que produzcan en las células vecinas y este proceso culmina con el desarrollo de células cancerosas que afectan la población de células corporales por medio de la alteración de su estructura normal. Cuando una población inicial de células mutantes crece, evoluciona con lentitud: en las células que componen la población se producen mutaciones nuevas y algunas de éstas se ven favorecidas por la selección natural (**Fig. 20-46**). Los factores ambientales o relacionados con el estilo de vida que no son mutágenos, como por ejemplo la obesidad, pueden contribuir al desarrollo de un cáncer al alterar las presiones que determinan la selección en los tejidos corporales y de esta manera ayudan a las células mutantes a sobrevivir y a proliferar. En algún momento aparecen células con todas las anomalías necesarias para que se desarrolle el cáncer.

Una célula cancerosa adquiere un conjunto completo de propiedades anormales a medida que se desarrolla. Una célula madre epitelial perteneciente al epitelio intes-

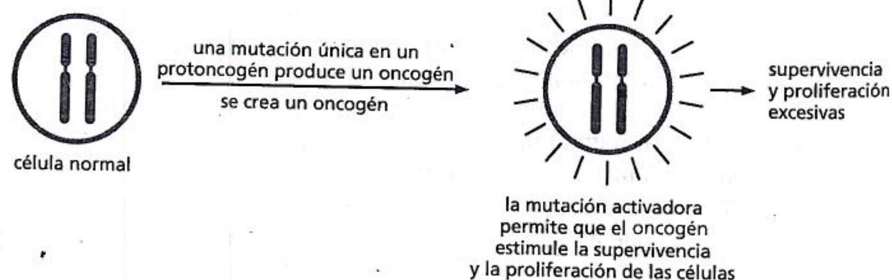
PREGUNTA 20-8

Se producen aproximadamente 10^{16} divisiones celulares en el cuerpo humano en toda la vida. Aun así el cuerpo humano adulto tiene sólo 10^{13} células ¿Por qué hay tanta diferencia entre estos números?

tinal, por ejemplo, debe sufrir modificaciones que no sólo le permitan seguir dividiéndose cuando debería detenerse sino que además impidan la descamación de su progenie de la superficie epitelial expuesta. La célula y su progenie debe adquirir la capacidad de desplazar a las células vecinas normales y de atraer una irrigación sanguínea suficiente para alentar el crecimiento tumoral continuo. Para que las células se conviertan en invasoras deben adquirir la capacidad de abrirse camino a través de la lámina basal del epitelio e ingresar en el tejido subyacente. Para diseminarse a otros tejidos, una capacidad conocida como *metástasis*, deben poder entrar y salir de la circulación sanguínea o linfática y establecerse y sobrevivir en sitios nuevos (véase Fig. 20-44).

Los distintos cánceres requieren diferentes combinaciones de propiedades. No obstante, podemos presentar una lista general de conductas clave que poseen las células cancerosas en contraposición con las células normales:

1. Dependen menos de las señales provenientes de otras células para crecer sobrevivir y dividirse. Con frecuencia esto se debe a que contienen mutaciones en componentes de las vías de señalización celular a través de los cuales las células responden a estos aspectos sociales. Por ejemplo, una mutación en el gen *Ras* (véase capítulo 16) puede producir una señal intracelular que determine la proliferación incluso en ausencia de las señales extracelulares que en condiciones normales serían necesarias para desencadenarla, como un timbre descompuesto que suena aunque nadie presione el botón.
2. Las células cancerosas tienen menos probabilidades de autodestruirse por apoptosis. Esta aversión al suicidio suele deberse a la presencia de mutaciones en genes que regulan el programa de muerte intracelular (comentado en el capítulo 18). Por ejemplo, alrededor del 50% de todos los pacientes con cáncer ha perdido o ha sufrido una mutación en el gen *p53*. En condiciones normales la proteína p53 actúa como parte de un mecanismo de control que determina si la célula debe dejar de dividirse (véase Fig. 18-13) o morir por apoptosis cuando su DNA está dañado. Por ejemplo, si no se repara la ruptura de un cromosoma, la célula suele ir al suicidio, pero si hay un defecto en la proteína p53 podría sobrevivir y dividirse, lo que determinaría la presencia de células hijas muy anormales que podrían ser más malignas.



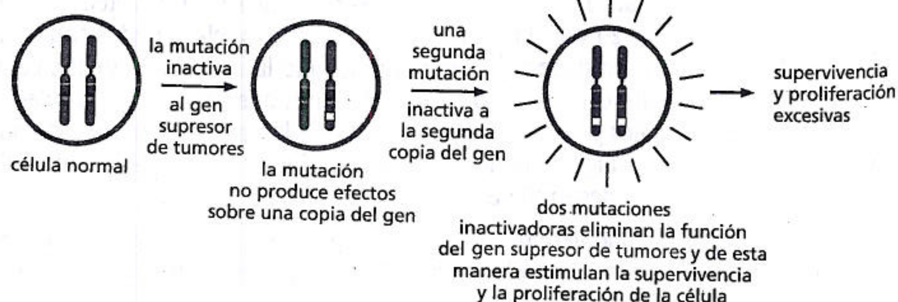


Figura 20-47. Los genes esenciales para el desarrollo del cáncer se clasifican en protooncogenes o genes supresores de tumores de acuerdo con su capacidad de producir mutaciones peligrosas dominantes o recesivas, respectivamente. Los oncogenes actúan en forma dominante: una mutación en una sola copia del protooncogén lo activa y puede transformar a la célula en cancerosa. En cambio, las mutaciones en los genes supresores de tumores suelen funcionar de manera recesiva: se debe perder la función de ambos alelos del gen para que la célula se transforme en cancerosa. En este esquema las mutaciones activadoras se representan con recuadros pintados de *rojo* y las mutaciones inactivadoras se representan con recuadros huecos con marco *rojo*.

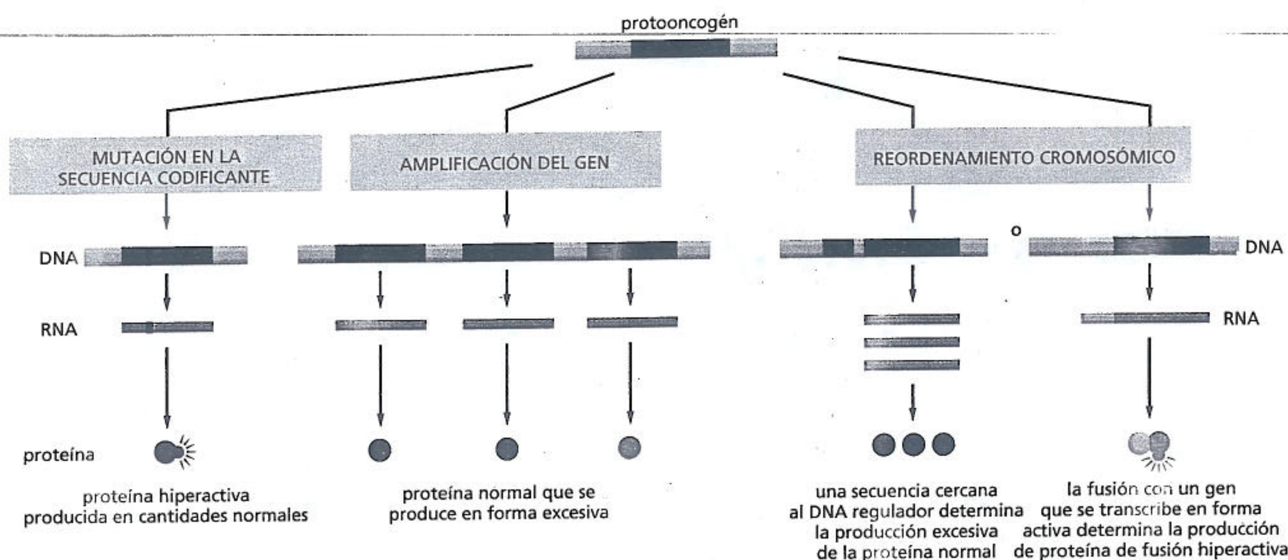


Figura 20-48. Varias clases de cambios genéticos pueden convertir un protooncogén en un oncogén. En todos los casos el cambio produce un incremento de la función del gen.

3. A diferencia de la mayoría de las células humanas normales, las células cancerosas en general pueden proliferar de manera ilimitada. Casi todas las células somáticas humanas normales sólo se dividen una cantidad limitada de veces en cultivo y luego dejan de dividirse en forma permanente, en apariencia porque los telómeros en los extremos de sus cromosomas son demasiado cortos (véase p. 210). Las células cancerosas típicas vencen esta barrera al reactivar la producción de la enzima telomerasa que mantiene la longitud del telómero.
4. Como se comentó con anterioridad, la mayoría de las células cancerosas son genéticamente inestables, con una tasa de mutación mucho más elevada que la de las células normales.
5. Las células cancerosas son anormalmente invasoras y esto suele deberse en parte a que carecen de las moléculas de adhesión celular específicas, como las cadherinas, que mantienen las células normales en sus sitios apropiados.
6. Las células cancerosas pueden sobrevivir y proliferar en tejidos extraños formando tumores secundarios (metástasis) mientras que la mayoría de las células normales mueren cuando cambian de lugar. Todavía no se conoce con precisión qué cambios moleculares son necesarios para conferirle a la célula esta capacidad.

Para comprender la biología molecular del cáncer debemos ser capaces de identificar las mutaciones que dan origen a estas formas anormales de comportamiento.

Muchos tipos diferentes de genes son cruciales para el desarrollo del cáncer

Se han utilizado varios enfoques para determinar los genes y las mutaciones esenciales para que se desarrolle el cáncer. Si bien se logró identificar muchos de los genes más importantes, todavía continúa la búsqueda de otros.

En algunos casos las mutaciones peligrosas son las que determinan que los genes afectados se activen en forma excesiva. Estas mutaciones ejercen un efecto dominante: sólo se necesita una copia mutada del gen para producir problemas; el gen mutante resultante se denomina **oncogén** (Fig. 20-47A); por lo tanto, la forma normal del gen se denomina **protooncogén**. En la figura 20-48 se muestran varias de las formas en las que se puede desarrollar la conversión del protooncogén en oncogén.

En otros genes, el peligro yace en mutaciones que destruyen la función génica. Por lo general, estas mutaciones son recesivas: ambas copias del gen deben perderse o inactivarse para que se manifieste algún efecto; el gen afectado se deno-

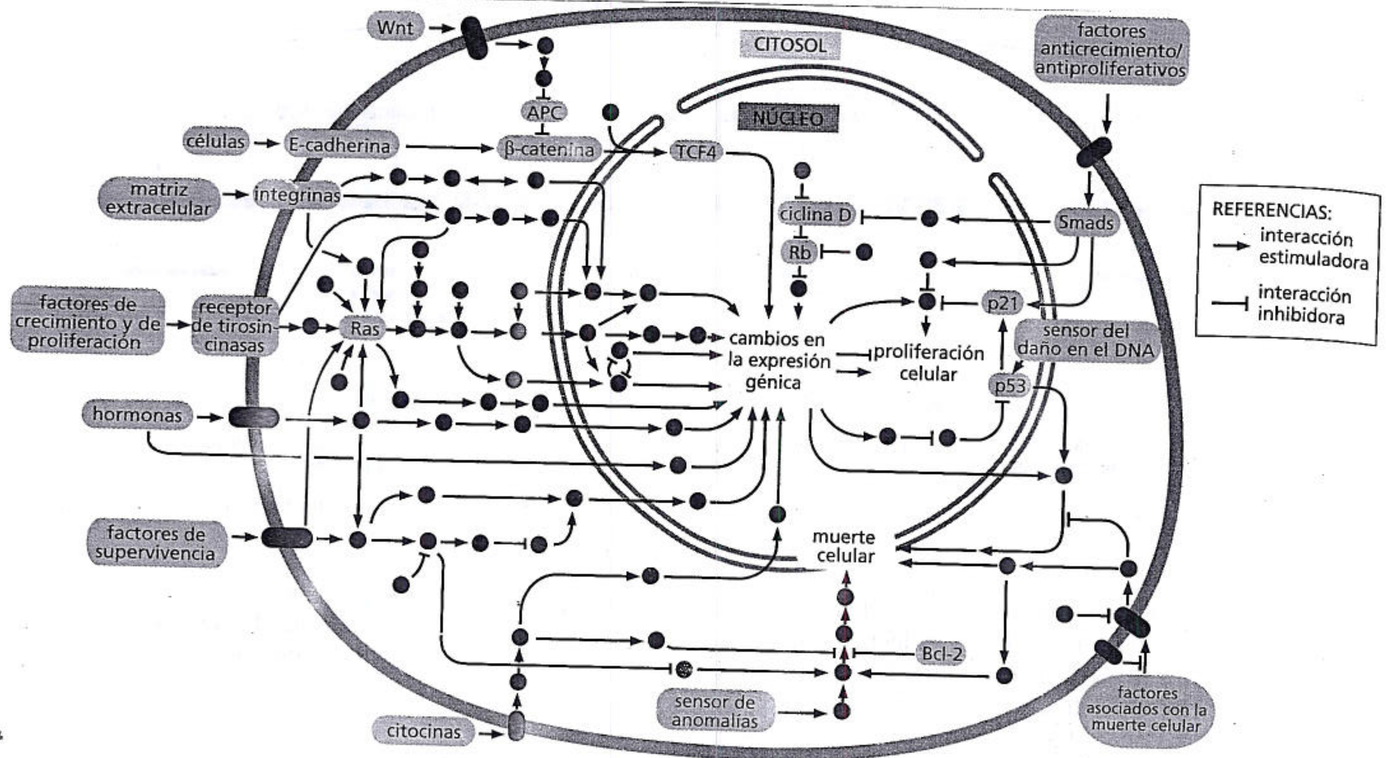


Figura 20-49. Existen muchos tipos distintos de genes esenciales para el desarrollo del cáncer. La ilustración muestra las vías de señalización principales para el desarrollo de cáncer en las células humanas e indica las localizaciones celulares de algunas de las proteínas modificadas por mutaciones. Con frecuencia aparecen tanto los productos de los protooncogenes como de los genes supresores de tumores dentro de las mismas vías. Las proteínas encargadas de la señalización se ilustran por medio de círculos *rojos* y los componentes principales del cáncer y los mecanismos de control comentados en el libro se ilustran en *verde*. Las interacciones estimulantes e inhibidoras entre los componentes se muestran con flechas y barras, respectivamente, como se indica en el panel de referencia. (Adaptada de D. Hanahan y R. A. Weinberg, *Cell* 100:57-70, 2000. Con autorización de Elsevier).

mina **gen supresor de tumores** (véase Fig. 20-47B). Los genes supresores de tumores se identificaron por primera en estudios de genética humana. En ocasiones se detectan individuos que han heredado una mutación en un gen supresor de tumores; aunque una copia de este gen es suficiente para el comportamiento normal de las células, a éstas les falta sólo una mutación para perder la función completa del gen (en contraposición con dos mutaciones en una persona normal). Como el cáncer necesita menos mutaciones adicionales para desarrollarse en estos individuos, la enfermedad se produce con mayor frecuencia y en promedio a una edad más temprana, a veces en la infancia. En consecuencia, las familias portadoras de estas mutaciones son muy propensas a desarrollar cáncer.

Los protooncogenes y los genes supresores de tumores son de varios tipos y representan las diferentes y numerosas clases de alteraciones del comportamiento que pueden expresar las células cancerosas. Algunos de estos genes codifican factores de crecimiento, receptores o –como *Ras*– componentes de las vías de señalización intracelulares activadas por factores de crecimiento. Otros codifican proteínas reparadoras del DNA, mediadores de la respuesta al daño del DNA, como p53, o reguladores del ciclo celular o del programa de muerte celular. Incluso hay otros genes que, como ya se explicó, codifican moléculas de adhesión celular como las cadherinas. En la figura 20-49 se ilustra esta diversidad en forma esquemática.

El cáncer colorrectal ejemplifica el grado en que la pérdida de un gen puede conducir a la proliferación de un tumor

El cáncer colorrectal representa un ejemplo bien estudiado que permite demostrar, en primer lugar, la forma en que se puede identificar un gen supresor de tumores

DETECCIÓN DE GENES IMPORTANTES PARA EL DESARROLLO DEL CÁNCER

La búsqueda de genes importantes para el desarrollo del cáncer a veces comienza con una familia que presenta una predisposición hereditaria a una forma específica de la enfermedad. Como ya se ha dicho, *APC* –un gen supresor de tumores que con frecuencia está ausente o inactivo en los individuos con cáncer colorrectal– se descubrió a partir de la evaluación de defectos genéticos en familias predispuestas a desarrollar esta enfermedad. Sin embargo, identificar el gen significa ganar sólo la mitad de la batalla. El siguiente paso consiste en determinar qué hace el gen en una célula normal y la razón por la cual las alteraciones en ese gen precipitan el desarrollo del cáncer.

Culpa por asociación

Determinar qué hace un gen –o el producto proteico codificado por él– dentro de una célula no es una tarea sencilla. Imaginemos que se aísla una proteína no caracterizada y se determina que actúa como una proteincinasa. Esta información no revela la forma en que funciona la proteína en el contexto de una célula viva. ¿Cuáles son sus proteínas diana? ¿En qué tejidos se activa? ¿Qué función cumple en el crecimiento o el desarrollo del organismo? Se necesita más información para comprender el contexto en el que se aplica la actividad bioquímica.

La mayoría de las proteínas no funcionan en forma aislada: interactúan con otras dentro de la célula. Por lo tanto, una manera de comenzar a dilucidar el papel biológico de una proteína es identificar las moléculas con las que se une. Si una proteína no caracterizada interactúa con otra cuya función dentro de la célula se conoce, es probable que su papel esté relacionado en cierta medida con el de la otra proteína. Tal vez el método más simple para identificar proteínas que se unen con otras en forma estrecha sea la inmunoprecipitación (véase Lámina 4-3, pp. 144-145). Esta técnica consiste en el empleo de un anticuerpo para capturar y precipitar una proteína específica de un extracto preparado mediante la ruptura de células; si la proteína buscada está asociada con otra proteína en forma estrecha, esta molécula también precipitará. Este método fue el que se empleó para caracterizar a la proteína APC.

Dos grupos de investigadores utilizaron anticuerpos contra APC para aislar la proteína de extractos preparados a partir de células humanas en cultivo. Los anticuerpos capturaron la APC junto con una segunda proteína. Cuando los investigadores examinaron la secuencia de aminoácidos de esta proteína acompañante la reconocieron como β-catenina.

El descubrimiento de que APC interactuaba con la β-catenina en un primer momento condujo a suposiciones erróneas sobre la función de APC en el cáncer colorrectal. En los mamíferos, la β-catenina era conocida sobre todo por su función en las uniones adherentes entre las células, donde actúa como conector entre las moléculas de cadherina que atraviesan la membrana y el citoesqueleto de actina intracelular (ilustrado, por ejemplo, en la figura 20-24). En consecuencia, algunos científicos creyeron durante algún tiempo que la APC podría participar en la adhesión celular. Sin embargo, luego de algunos años se descubrió que la β-catenina también cumplía una función completamente diferente y que la interacción de APC con ella era importante para el desarrollo del cáncer por una razón muy distinta.

Moscas sin alas

Poco tiempo antes del descubrimiento de que la APC se unía con la β-catenina, los biólogos del desarrollo que trabajaban con *Drosophila* habían descubierto que la proteína β catenina humana tenía una secuencia muy similar a una proteína de *Drosophila* denominada Armadillo. Se sabía que esta proteína era un elemento clave en una vía de señalización que desempeña una función importante en el desarrollo normal de la mosca de la fruta. La vía es activada por una familia de moléculas de señalización denominadas proteínas Wnt; el miembro principal de la familia génica Wnt se denominó *wingless* (sin alas) por su fenotipo mutante. Las proteínas Wnt se unen a receptores sobre la superficie de la célula y activan una cascada de señales intracelulares que en definitiva conduce a la activación de un grupo de genes que influyen sobre el crecimiento, la división y la diferenciación celular. Las mutaciones en cualquiera de las proteínas de esta vía producen errores en el desarrollo que alteran el plan corporal básico de la mosca. Las mutaciones menos devastadoras causan moscas sin alas; sin embargo, la mayoría de las mutaciones producen la muerte del embrión. En todos los casos, la lesión parece deberse a los efectos sobre la expresión génica. Esta observación sugiere con firmeza que la proteína Armadillo y, por lo tanto, su homóloga en los vertebrados β-catenina, no eran sólo la base de la adhesión celular sino que además mediaban de alguna manera el control de la expresión génica.

La vía de la proteína Wnt se descubrió y evaluó en forma detallada en las moscas de la fruta, pero se halló un grupo similar de proteínas que controla muchos aspectos del desarrollo en los vertebrados, incluidos los ratones y los seres humanos. De hecho, algunas de las proteínas de la vía Wnt funcionan de manera casi igual en *Drosophila* y en los vertebrados. La relación directa entre la β-catenina y la expresión génica se confirmó cuando se evaluaron células de mamíferos. Así como APC podía usarse como "señuelo" para atrapar a su pareja β-catenina mediante inmunoprecipitación, la β-catenina podía utilizarse como señuelo para capturar a la siguiente proteína en la cadena de causa y efecto. Se descubrió que ésta correspondía a una proteína reguladora de genes que se fija en el DNA y se denomina LEF-1/TCF o TCF como abreviatura. También se descubrió que tenía una contrapartida en la vía Wnt de *Drosophila* y la combinación de la genética de *Drosophila* con la biología de las células de mamífero permitió revelar la forma en que funciona el mecanismo de control de los genes.

Wnt transmite su señal a través de la inducción de la acumulación de β-catenina "libre" (o, en las moscas Armadillo) es decir, β-catenina que no está fija en las uniones adherentes. Esta proteína libre migra desde el citoplasma hacia el núcleo, donde se une a la proteína reguladora de la transcripción TCF y forma un complejo que activa la transcripción de varios genes sensibles a

Wnt, por ejemplo, genes cuyos productos estimulan la proliferación celular (Fig. 20-50).

APC regula la actividad de esta vía por medio de la facilitación de la degradación de β-catenina y, de esta manera, de la prevención de la activación de TCF en las células que no han recibido la señal Wnt (véase Fig. 20-50). La pérdida de APC permite el aumento de los niveles de β-catenina, de manera que TCF y los genes sensibles a Wnt se activan incluso en ausencia de Wnt. Pero, ¿cómo se relaciona este proceso con el desarrollo del cáncer colorrectal? Para descubrirlo, los investigadores evaluaron ratones que carecían de TCF4, un miembro de la familia de genes TCF que se expresa en forma específica en el revestimiento intestinal.

Cuentos de la cripta

Aunque pueda parecer contradictorio, una de las formas más directas de averiguar qué produce un gen es ver qué pasa en el organismo en ausencia de él. Si se pueden descubrir los procesos celulares alterados o comprometidos se puede comenzar a determinar la función del gen.

Con esta idea, los investigadores produjeron ratones con desactivaciones génicas (*knockout*) que implicaban alteraciones en los genes que codificaban TCF4. La mutación resulta letal: los ratones carentes de TCF4 morían poco después del nacimiento. Sin embargo, los animales mostraban una anomalía interesante en su intestino. Se observaba un fracaso completo del desarrollo de las criptas intestinales con sus poblaciones de células madre renovadoras del revestimiento del intestino (véase Fig. 20-36). Los investigadores llegaron a la conclusión de que en condiciones normales TCF4 era responsable del mantenimiento de las células madre proliferativas intestinales.

Cuando falta APC observamos la otra cara de la moneda: sin APC para promover su degradación se acumulan cantidades excesivas de β-catenina, que se une a la proteína reguladora de genes TCF4 y activa a los genes que responden a TCF4 en forma desmesurada. Esto conduce a la formación de pólipos al promover la proliferación inapropiada de células madre intestinales. Las células diferenciadas de la progenie siguen produciéndose y se descaman en la luz intestinal, pero la población de células de la cripta crece demasiado rápido como para mantener un equilibrio con este mecanismo de eliminación. El resultado es el aumento del tamaño de la cripta y un incremento constante de la cantidad de criptas. La masa de tejido proliferativo sobresale en la luz intestinal en forma de pólipo (véase Fig. 20-51). Se requieren mutaciones adicionales para convertir este tumor primario en un cáncer invasor.

Más del 60% de los tumores colorrectales humanos albergan mutaciones en el gen *APC*. Es interesante señalar que entre la minoría de los tumores que conservan APC funcionante alrededor de una cuarta parte muestra mutaciones que activan la β-catenina. Estas mutaciones tienden a determinar que la proteína β-catenina sea más resistente a la degradación y en consecuencia producen el mismo efecto que la pérdida de APC. De hecho, se han detectado mutaciones que incrementan la actividad de la β catenina en muchos otros tipos de tumores, p. ej. en melanomas, cánceres de estómago y cánceres de hígado. En consecuencia, la vía de señalización Wnt proporciona muchos sitios en los que pueden producirse mutaciones que estimulen el desarrollo de cáncer.

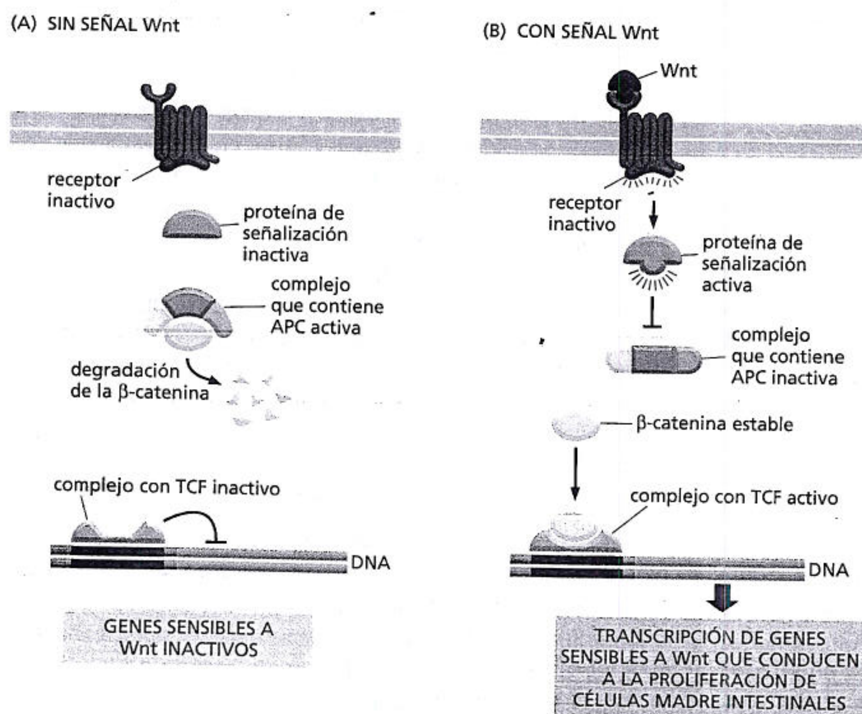


Figura 20-50. La proteína APC mantiene la vía de señalización Wnt inactiva cuando la célula no está expuesta a la proteína Wnt. Esto se realiza mediante la promoción de la degradación de la molécula de señalización β-catenina. En presencia de Wnt o en ausencia de APC activa la β catenina libre se acumula y se combina con el regulador de la transcripción TCF para dirigir la transcripción de genes dependientes de Wnt y, en última instancia, la proliferación de las células madre en la cripta intestinal. En el colon, las mutaciones que inactivan la APC inician los tumores al producir la activación excesiva de la vía Wnt.

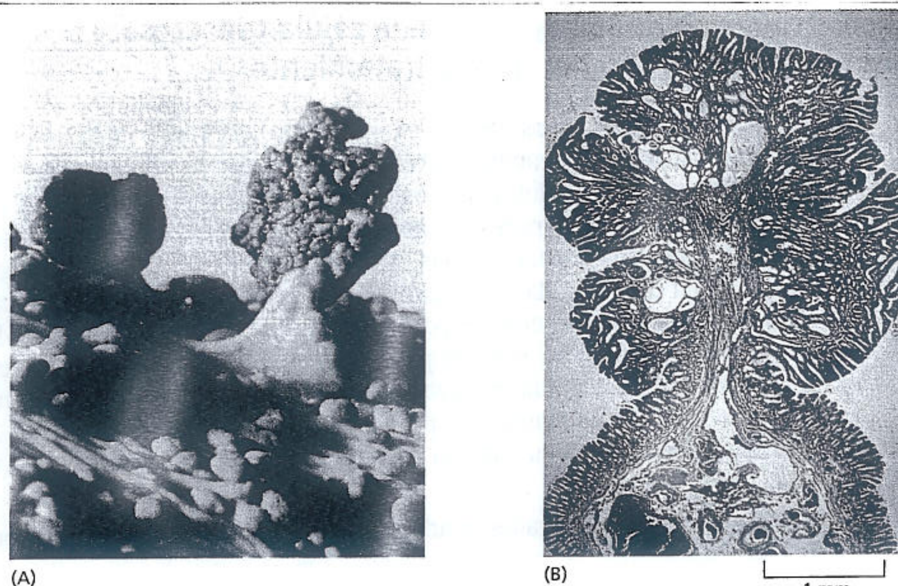


Figura 20-51. El cáncer colorrectal suele comenzar con la pérdida del gen supresor de tumores APC, lo que conduce a la proliferación de un pólipo. (A) Se observan miles de pólipos pequeños y algunos pólipos más grandes en el epitelio del colon de un paciente con una mutación hereditaria en *APC* (se pueden observar uno o dos pólipos en personas normales desde el punto de vista genético). Ante el desarrollo de mutaciones adicionales algunos de estos pólipos progresarán hasta convertirse en cánceres malignos si el tejido no se extirpa mediante cirugía. (B) Corte transversal de uno de estos pólipos; obsérvese la gran cantidad de epitelio invaginado hasta la profundidad del tumor que corresponde a criptas llenas de células que proliferan en forma anormal. (A, cortesía de John Northover y Cancer Research UK; B, cortesía de Anne Campbell).

y, en segundo lugar, la manera en que su identificación permite comprender el mecanismo molecular básico del crecimiento de un tipo de tumor común. El cáncer colorrectal se origina en el epitelio de revestimiento del colon y el recto; la mayoría de los casos se observan en ancianos y no se asocian con una causa hereditaria demostrable. Sin embargo, en un pequeño porcentaje de los casos este cáncer aparece en familias excepcionalmente propensas a desarrollar la enfermedad y se manifiesta a edades muy tempranas. En un grupo de familias la predisposición al cáncer ha sido atribuida a una mutación hereditaria en una enzima reparadora del DNA, como ya se comentó en el capítulo 6. En otra clase de cáncer colorrectal hereditario se observa una mutación diferente que produce un fenotipo muy distintivo. Los individuos afectados desarrollan cáncer colorrectal durante la adultez temprana y el comienzo de la enfermedad es preanunciado por la aparición de centenares o millares de pequeñas proliferaciones tumorales, denominadas pólipos, en el revestimiento del colon y el recto. Por medio de estudios familiares se puede determinar que la anomalía corresponde a una deleción o a la inactivación de un gen llamado *gen de la poliposis adenomatosa colónica* (*APC, Adenomatous Polyposis Coli*). Los individuos afectados heredan una copia mutante del gen y una copia normal; el cáncer se origina en células afectadas por una mutación que inactiva la copia funcionante restante. Sin embargo, falta determinar lo que sucede en la gran mayoría de los pacientes con cáncer colorrectal que heredaron dos copias funcionantes de *APC* y no tienen trastorno hereditario ni antecedentes familiares significativos de cáncer. Cuando se analizan estos tumores se descubre que si bien existen ambas copias del gen *APC* en el tejido normal vecino, en más del 60% de los casos las células tumorales han perdido las dos copias del gen, probablemente a través de dos mutaciones somáticas independientes.

Todos estos elementos permiten afirmar que *APC* es un gen supresor de tumores y si se conocen su secuencia y su fenotipo mutante se puede comenzar a establecer la forma en que su pérdida contribuye a iniciar el desarrollo del cáncer. Como se explica en el recuadro de **Biología experimental**, el gen *APC* codifica una proteína inhibidora que en condiciones normales limita la activación de una vía de señalización intercelular, denominada vía Wnt, que interviene en la estimulación de la proliferación celular en las criptas del revestimiento intestinal. Cuando se pierde el gen *APC* la vía se activa en forma excesiva y las células proliferan demasiado, lo que produce un pólipo (Fig. 20-51). Dentro de esta masa de tejido que crece pueden producirse mutaciones adicionales que determinen el desarrollo de un cáncer invasor (Fig. 20-52).

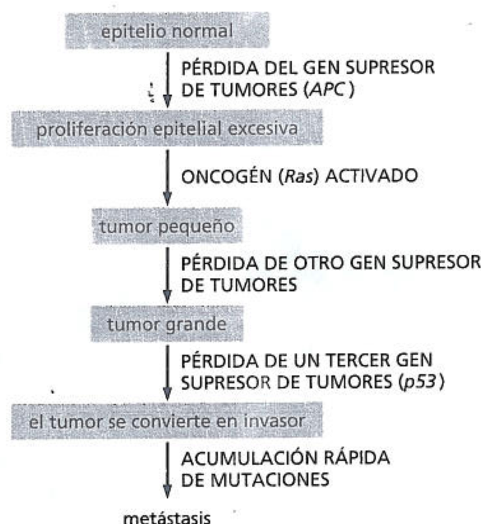


Figura 20-52. Un pólipo en el revestimiento intestinal causado por la pérdida del gen *APC* puede progresar a cáncer si se acumulan mutaciones adicionales. El diagrama muestra una secuencia de mutaciones que podría determinar el desarrollo de un caso típico de cáncer colorrectal. Una secuencia de acontecimientos como la que se describe aquí tardaría entre 10 y 20 años o más. Aunque se considera que la mayoría de los cánceres colorrectales se inicia por la pérdida del gen supresor de tumores *APC*, la secuencia posterior de mutaciones es bastante variable; de hecho, muchos pólipos nunca progresan hasta convertirse en cáncer.

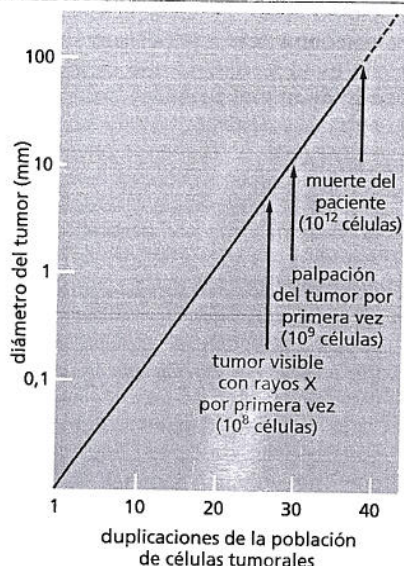


Figura 20-53. Por lo general un tumor no se diagnostica hasta que ha crecido lo suficiente para contener centenares de millones de células. Aquí se grafica el crecimiento de un tumor típico en escala logarítmica. Pueden pasar varios años antes del descubrimiento del tumor. Por ejemplo, el tiempo de duplicación de un cáncer de mama típico es de alrededor de 100 días.

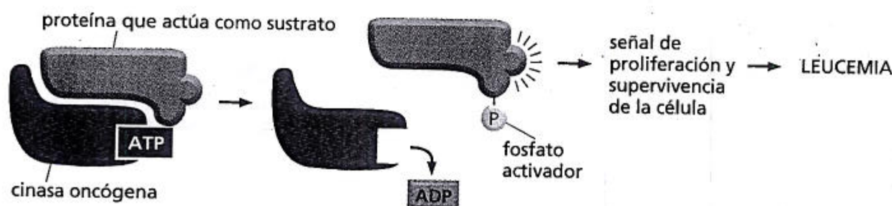
El conocimiento de la biología de la célula cancerosa permite el desarrollo de nuevos tratamientos

Cuanto mejor comprendamos los trucos que usan las células cancerosas para sobrevivir, proliferar y diseminarse habrá más probabilidades de combatirlas. La tarea es difícil porque las células cancerosas pueden sufrir mutaciones y, al igual que las malas hierbas o los parásitos, adquieren una rápida resistencia a los tratamientos utilizados para exterminarlas. Además, como las mutaciones se producen al azar, cada caso de cada variedad de cáncer posee su combinación única de genes mutados. Por consiguiente, es poco probable que un único tratamiento funcione en todos los pacientes. Por otra parte, los cánceres en general no se detectan hasta que el tumor primario haya alcanzado un diámetro de 1 cm o más, momento en el cual está compuesto por centenares de millones de células con diversidad genética y que a menudo ya han comenzado a generar metástasis (Fig. 20-53).

A pesar de todas estas dificultades, muchos cánceres pueden ser tratados en forma eficaz y las perspectivas de lograr tratamientos más apropiados son enormes. La cirugía sigue siendo la táctica más eficaz y las técnicas quirúrgicas mejoran en forma continua: en muchos casos, si un cáncer no se ha diseminado demasiado con frecuencia se lo puede curar simplemente mediante su extirpación. Cuando la cirugía fracasa se pueden emplear tratamientos basados en las peculiaridades intrínsecas de las células cancerosas. Por ejemplo, la falta de mecanismos de control pueden determinar que las células cancerosas sean particularmente vulnerables al daño del DNA: mientras que una célula normal detiene su proliferación hasta que el daño se haya reparado, las células cancerosas continúan su división, y producen células hijas que pueden morir debido a que heredan un conjunto de cromosomas incompleto o alterado. Es probable que ésta sea la razón por la que las células cancerosas a menudo se destruyen por dosis de radioterapia o quimio-

(A)

CINASA ONCÓGENA ACTIVA



CINASA ONCÓGENA BLOQUEADA POR GLEEVEC



(B)



Figura 20-54. El fármaco Gleevec bloquea la actividad de una proteína oncógena y detiene algunos tipos de cánceres. (A) En la leucemia mieloide crónica, un cáncer en el que se produce una cantidad excesiva de glóbulos blancos, el comportamiento celular patológico casi siempre se debe a una mutación específica (una translocación cromosómica) que afecta a un gen denominado *Abl* que codifica una proteína tirosincinasa. La mutación produce una forma oncógena de *Abl* cuyo producto proteico es hiperactivo y fosforila otras proteínas cuando no debería, lo que determina la activación de una señal intracelular que estimula la producción excesiva de glóbulos blancos. El fármaco Gleevec entra en contacto con el bolsillo de unión del ATP de la cinasa hiperactiva e impide que transfiera un grupo fosfato del ATP sobre una tirosina en sus proteínas diana. Esta inhibición bloquea la transmisión anterógrada de una señal que determina la proliferación y la supervivencia de las células. El Gleevec también es efectivo contra algunos otros cánceres asociados con oncogenes que codifican proteínas tirosincinasas similares a Abl. (B) Estructura de un complejo formado por Gleevec (objeto *sólido de color azul*) y el dominio tirosincinasa de la proteína Abl (diagrama de cintas), de acuerdo con observaciones en cristalografía de rayos-X. (B, de T. Schindler et al., *Science* 289:1938-1942, 2000. Con autorización de AAAS).

terapia que daña el DNA y que casi no afectan las células normales adyacentes intactas.

Estos tratamientos ya están consolidados, pero en la actualidad prosiguen con entusiasmo muchos enfoques originales. En algunos casos, como sucede con la pérdida de control, la misma característica que ayuda a determinar la peligrosidad de la célula cancerosa también la convierte en vulnerable, lo que nos posibilita destruirla con el tratamiento específico adecuado. Por ejemplo, algunos cánceres de mama y de ovario deben su inestabilidad genética a la falta de una proteína (Brca1 o Brca2) necesaria para la reparación correcta de las roturas de doble hélice de DNA (descrito en el capítulo 6); las células cancerosas sobreviven porque cuentan con otra maquinaria que le provee tipos alternativos de reparación de DNA. Un fármaco que inhibe una de estas vías alternativas destruye las células cancerosas porque aumenta su inestabilidad genética en una magnitud tal que las células mueren por fragmentación cromosómica cuando intentan dividirse. Las células normales, que poseen intacta la maquinaria de reparación de rotura de la doble hélice, prácticamente no son afectadas y el fármaco parece tener pocos efectos colaterales.

Otra estrategia promisoria consiste en bloquear los vasos sanguíneos nuevos que habitualmente invaden un tumor en vías de crecimiento (**Película 20.8**). Este enfoque debería interrumpir la proliferación tumoral al privar a las células de su irrigación sanguínea. Otro conjunto de estrategias consiste en utilizar de diferentes maneras al sistema inmunitario para destruir las células tumorales que aprovecha de las moléculas específicas de la superficie de las células tumorales para dirigir el ataque. La vacunación con moléculas específicas del tumor puede estimular el sistema inmunitario del paciente para que actúe en contra del tumor o pueden producirse in vitro anticuerpos contra estas moléculas tumorales y, después, inyectarlas al paciente para marcar las células tumorales para su destrucción.

En algunos casos de cáncer se intenta lograr la marcación de productos de oncogenes específicos para bloquear su acción nociva en forma directa. Por ejemplo, en la *leucemia mieloide crónica* (LMC) se sabe que la alteración del comportamiento de las células cancerosas depende de una proteína de señalización mutante (una proteína tirosincinasa) que provoca que las células proliferen cuando no deberían. Se ha desarrollado una pequeña molécula farmacológica, denominada Gleevec, para bloquear la actividad de esta cinasa (**Fig. 20-54**). Los resultados han sido muy exitosos: en muchos pacientes el fármaco inhibió en gran medida la proliferación anormal y la supervivencia de las células leucémicas y se logró una remisión prolongada de los síntomas. Este fármaco es eficaz en algunos otros cánceres que contienen oncogenes similares.

Con estos ejemplos podemos esperar que pronto, equipados con los conocimientos actuales sobre la biología molecular del cáncer, sea posible desarrollar métodos terapéuticos racionales y eficaces para un grupo todavía más amplio de manifestaciones de la enfermedad. A la inversa, la atención puesta en el cáncer provee gran información acerca de la biología molecular básica. La aplicación de este conocimiento va más allá del tratamiento del cáncer; brinda el conocimiento acerca de cómo actúa el mundo viviente en su conjunto.

CONCEPTOS ESENCIALES

- Los tejidos están compuestos por células y matriz extracelular.
- En los vegetales, cada célula deposita matriz extracelular a su alrededor formando una pared celular compuesta por celulosa y otros polisacáridos.
- Las células vegetales desnudas son frágiles pero pueden ejercer una presión de tumefacción osmótica sobre la pared que las rodea manteniendo la turgencia del tejido al que pertenecen.
- Las microfibrillas de celulosa pertenecientes a la pared celular vegetal otorgan resistencia a la tensión; otros componentes de la pared celular aportan resistencia a la compresión.

- La orientación en la que se deposita la celulosa controla la dirección del crecimiento del vegetal.
- Los tejidos conectivos presentes en los animales proporcionan sostén mecánic y están compuestos por una matriz extracelular con escasas células diseminadas.
- Las células del tejido conectivo sintetizan los componentes proteicos y polisacáridos de la matriz en la que se alojan; en la mayoría de los tejidos conectivos estas células se denominan fibroblastos.
- En la matriz extracelular de los animales la resistencia a la tensión depende d la proteína fibrosa conocida como colágeno.
- Las proteínas transmembrana integrinas conectan las proteínas de la matriz extracelular, p. ej., la fibronectina, con el citoesqueleto intracelular.
- Los glucosaminoglucanos (GAG), unidos por enlaces covalentes a proteínas lo que forma proteoglucanos, llenan los espacios y proporcionan resistencia a la compresión.
- Las células unidas en capas epiteliales cubren todas las superficies externas e internas del cuerpo del animal.
- A diferencia de lo que sucede en los tejidos conectivos, en las capas epiteliales la tensión se transmite en forma directa de una célula a otra a través de las uniones intercelulares.
- Las proteínas de la familia de las cadherinas atraviesan la membrana de l células epiteliales y se unen con cadherinas similares presentes en las células epiteliales adyacentes.
- En una unión adherente, las cadherinas se conectan con los filamentos de actir intracelulares; en un desmosoma se conectan con los filamentos de queratina.
- Los filamentos de actina unidos de una célula a otra a través del epitelio pueden contraerse y determinar que el epitelio se pliegue.
- Los hemidesmosomas adhieren la cara basal de una célula epitelial con la lámina basal, una lámina especializada de matriz extracelular.
- Las uniones estrechas sellan una célula epitelial con la otra y de esta mane impiden la difusión de moléculas hidrosolubles a través del epitelio.
- Las uniones comunicantes (gap) forman canales que permiten el pasaje de iones y moléculas pequeñas de una célula a otra; los plasmodesmos de los vegetal cumplen la misma función pero con una estructura diferente.
- La mayoría de los tejidos de los vertebrados consiste en combinaciones complejas de tipos celulares sujetos a un recambio continuo.
- La estructura del organismo adulto se mantiene y se renueva de acuerdo con los mismos procesos básicos que se producen en el embrión: proliferación celular. movimiento de las células y diferenciación celular. Al igual que en el embrió estos procesos están sujetos al control de la comunicación celular, la adhesión intercelular selectiva y la memoria celular.
- Las células nuevas con diferenciación terminal se originan en las células mad por lo general a través de la producción de células precursoras proliferativas.
- Las células madre embrionarias (ESC) pueden mantenerse en forma indefinida en cultivo y conservan su capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de cél del organismo.
- Las células madre pluripotentes inducidas (células iPS), que se asemejan a las ESC, pueden generarse a partir de células del organismo humano adulto impulsar en forma artificial la expresión de un pequeño conjunto de genes fundamentales.
- Las células cancerosas no obedecen las restricciones sociales que en condic nes normales mantienen la organización de los tejidos: proliferan cuando no deberían, sobreviven en lugares atípicos e invaden regiones a las que no pertenecen.
- El humo del tabaco produce más casos de cáncer que cualquier otro mutágeno ambiental.
- El cáncer se debe a la acumulación de muchas mutaciones en una sola línea células somáticas.

- Las células cancerosas son genéticamente inestables y presentan una tasa más elevada de mutaciones; muchas células muestran anomalías cromosómicas evidentes.
- Las células cancerosas típicas expresan telomerasa, lo que les permite seguir dividiéndose cuando las células humanas normales dejarían de hacerlo.
- La mayoría de las células cancerosas humanas alberga mutaciones en el gen *p53*, lo que les permite sobrevivir y dividirse aun cuando su DNA esté dañado.
- Las mutaciones que promueven el desarrollo del cáncer lo hacen por medio de la conversión de protooncogenes en oncogenes, que son hiperactivos, o por medio de la inactivación de genes supresores de tumores.
- A veces los genes supresores de tumores se identifican a través de estudios de las escasas familias que presentan tendencia a desarrollar cáncer en las que se hereda una mutación en una copia de un gen.
- El conocimiento de las alteraciones moleculares en las células de cánceres determinados permite diseñar tratamientos eficaces específicos.

PALABRAS CLAVE

apical
basal
cadherina
cáncer
célula madre
célula madre embrionaria (ESC)
células madre pluripotentes inducidas (células iPS)
clonación reproductiva
clonación terapéutica
colágeno
desmosoma
epitelio
fibroblasto
fibronectina
gen supresor de tumores
glucosaminoglucano (GAG)
hemidesmosoma
inestabilidad genética
integrina
lámina basal
matriz extracelular
metastasis
microfibrilla de celulosa
oncogén
pared celular
plasmodesmo
proteína Wnt
proteoglucano
protooncogén
señalización Wnt
tejido
tejido conectivo
unión adherente
unión celular
unión comunicante (*gap*)
unión estrecha

PREGUNTAS

PREGUNTA 20-9

¿Cuáles de las siguientes afirmaciones son correctas? Explique sus respuestas.

A. Las uniones comunicantes conectan el citoesqueleto de una célula con el de la célula vecina o con la matriz extracelular.

B. Una hoja de una planta marchita puede compararse con una rueda de bicicleta desinflada.

C. Debido a su estructura rígida, los proteoglucanos pueden soportar fuerzas compresivas de gran magnitud.

D. La lámina basal es una capa especializada de matriz extracelular a la que se unen las capas de células epiteliales.

E. Las células de la piel se descaman en forma continua y se renuevan cada pocas semanas; por lo tanto, para realizar un tatuaje permanente es necesario depositar el pigmento debajo de la epidermis.

F. Aunque las células madre no estén diferenciadas, están especializadas y, en consecuencia, sólo dan origen a tipos celulares específicos.

PREGUNTA 20-10

¿Cuáles de las siguientes sustancias pasan de una célula a otra a través de (a) uniones comunicantes y de (b) plasmodesmos? Ácido glutámico, mRNA, AMP cíclico, Ca^{2+}, proteínas G y fosfolípidos de la membrana plasmática.

PREGUNTA 20-11

Explique la siguiente afirmación: "Si las células vegetales tuvieran filamentos intermedios que les proporcionan resistencia a la tensión sus paredes no serían necesarias".

PREGUNTA 20-12

Las uniones comunicantes permiten el acoplamiento metabólico y eléctrico entre las células por medio del intercambio de iones y pequeños metabolitos. Entonces, ¿por qué las

neuronas se comunican sobre todo a través de sinapsis y no de uniones comunicantes?

PREGUNTA 20-13

La gelatina está compuesta principalmente por colágeno, que es el que determina la gran resistencia a la tensión del tejido conectivo. Esta sustancia es el ingrediente básico de la mermelada; sin embargo, como es probable que haya experimentado muchas veces mientras consumía mermelada de frutillas, esta sustancia prácticamente carece de resistencia a la tensión. ¿Por qué?

PREGUNTA 20-14

"La estructura de un organismo depende del genoma que contiene el óvulo." ¿En qué evidencia se basa esta afirmación? Si un amigo lo desafiara a reemplazar el DNA de un óvulo de cigüeña por DNA humano para ver si obtiene un neonato humano, ¿qué le respondería?

PREGUNTA 20-15

Las leucemias –o sea los cánceres originados en mutaciones que determinan una producción excesiva de leucocitos– comienzan a una edad promedio más temprana que los demás cánceres. Trate de explicar el motivo.

PREGUNTA 20-16

Evalúe con atención el gráfico de la figura P20-16, que muestra la cantidad de casos de cáncer de colon diagnosticados cada 100.000 mujeres por año en función de la edad. ¿Por qué este gráfico es tan empinado y curvado si las mutaciones se producen con una frecuencia similar durante toda la vida de la persona?

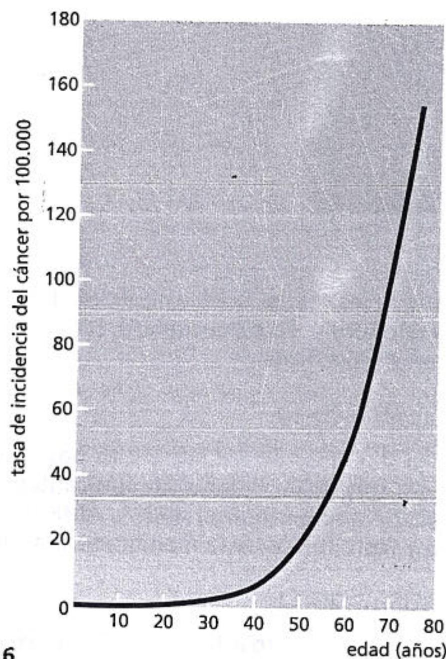


Figura P20-16

PREGUNTA 20-17

Los grandes fumadores o los trabajadores industriales expuestos durante un tiempo limitado a una sustancia química carcinógena que induce mutaciones en el DNA no suelen comenzar a desarrollar cánceres característicos de su hábito o de su ocupación hasta 10, 20 o incluso más años después de la exposición. Sugiera la explicación de este gran retraso.

PREGUNTA 20-18

Los niveles elevados de estrógeno (la hormona sexual femenina) aumentan la incidencia de ciertas formas de cáncer. Por ese motivo, algunas de las primeras formas de anticonceptivos orales con concentraciones elevadas de estrógeno se retiraron del mercado porque se observó un aumento del riesgo de cáncer de endometrio. Los transexuales masculinos que usan preparados de estrógeno para adquirir aspecto femenino muestran un aumento del riesgo de desarrollar cáncer de mama. Los niveles elevados de andrógenos (hormonas sexuales masculinas) aumentan el riesgo de desarrollar algunas otras formas de cáncer, como el cáncer de próstata. ¿Se podría inferir de lo anterior que los estrógenos y los andrógenos son mutágenos?

PREGUNTA 20-19

¿El cáncer es hereditario?

Respuestas

Capítulo 1

RESPUESTA 1-1 Intentar definir la vida en términos de propiedades es una tarea esquiva, como indica este ejercicio de puntuación (Cuadro A1-1). Las aspiradoras son objetos altamente organizados, toman materia y energía del ambiente, además, transforman la energía en movimiento y responden a los estímulos del operador al hacerlo. Por otra parte, no pueden reproducirse, crecer ni desarrollarse, pero tampoco pueden hacerlo los animales viejos. Las papas no presentan un respuesta particular a estímulos, etcétera. Es curioso que las definiciones convencionales de la vida en general no mencionan que los organismos vivos de la Tierra están compuestos, en gran medida, por moléculas orgánicas, que la vida está basada en el carbono. Como se sabe, los tipos clave de "macromoléculas informativas" –DNA, RNA y proteínas– son las mismas en todas las especies vivas.

CUADRO A1-1 PUNTUACIONES DE "VIDA" PLAUSIBLES PARA UNA ASPIRADORA, UNA PAPA Y UN SER HUMANO

CARACTERÍSTICA	ASPIRADORA	PAPA	SER HUMANO
1. Organización	Sí	Sí	Sí
2. Homeostasis	Sí	Sí	Sí
3. Reproducción	No	Sí	Sí
4. Desarrollo	No	Sí	Sí
5. Energía	Sí	Sí	Sí
6. Capacidad de respuesta	Sí	No	Sí
7. Adaptación	No	Sí	Sí

RESPUESTA 1-2 La mayor parte de los cambios aleatorios del diseño de un zapato determinarían defectos objetables: los zapatos con múltiples tacos, sin suelas o con tamaños extraños sin duda no se venderían y, por lo tanto, no serían seleccionados por las fuerzas del mercado. Otros cambios serían neutros, como variaciones menores del color o del tamaño. Sin embargo, una minoría de los cambios podrían dar por resultado zapatos más convenientes: p. ej., surcos profundos en una suela antes plana podrían crear zapatos que rendirían mejor en condiciones húmedas; la pérdida de los tacos altos podría producir zapatos más cómodos. El ejemplo ilustra que los cambios aleatorios pueden inducir mejoras significativas si la cantidad de pruebas es lo bastante grande y se imponen las presiones selectivas.

RESPUESTA 1-3 Es sumamente improbable que usted haya creado un nuevo organismo en este experimento. Es mucho más probable que una espora del aire aterrizara en su caldo, germinara y diera origen a las células que usted observó. A mediados del siglo XIX, Louis Pasteur inventó un aparato ingenioso para refutar el concepto ampliamente sostenido en esa época de que la vida podía surgir en forma espontánea. Mostró que nunca crecía nada en frascos sellados si primero eran esterilizados de modo apropiado con calor. Superó las objeciones de los que señalaban la falta de oxígeno o que sugerían que la esterilización por calor destruía el principio generador de vida, al utilizar un frasco especial con un "cuello de cisne" delgado, que estaba diseñado para impedir que las esporas transportadas por el aire contaminaran el cultivo (Fig. A1-3). Los cultivos de estos frascos nunca mostraron signo de vida; sin embargo, eran capaces de mantener la vida, como se pudo demostrar arrastrando por lavado algo del "polvo" del cuello hacia el cultivo.

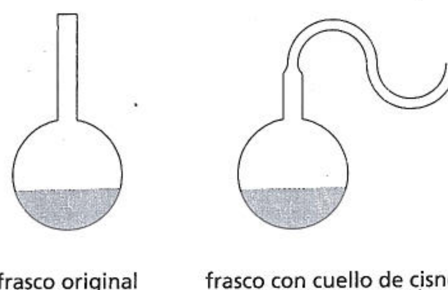


Figura R1-3

RESPUESTA 1-4 6×10^{39} bacterias ($= 6 \times 10^{27}$ g/10^{-12} g) tendrían la misma masa que la Tierra. Y $6 \times 10^{39} = 2^{t/20}$, de acuerdo con la ecuación que describe el crecimiento exponencial. La resolución de esta ecuación para t indica que t = 2.642 minutos (o 44 horas). Esto representa sólo 132 tiempos de generación (!), mientras que han transcurrido 5×10^{14} tiempos de generación bacteriana durante los últimos 3.500 millones de años. Es evidente que la masa total de bacterias de este planeta no se acerca a la masa de la Tierra. Esto ilustra que el crecimiento

exponencial puede tener lugar sólo por muy pocas generaciones, es decir, por períodos minúsculos respecto de la evolución. En cualquier escenario realista, los suministros de alimentos se tornan un factor de limitación con mucha rapidez.
Este simple cálculo muestra que la capacidad de crecer y dividirse con rapidez cuando el alimento es abundante es sólo un factor en la supervivencia de una especie. Por lo general, el alimento es escaso, y los individuos de la misma especie tienen que competir entre sí por los recursos limitados. La selección natural favorece a los mutantes que ganan esta competencia o que encuentran maneras de aprovechar las fuentes de alimentos que sus vecinos no pueden utilizar.

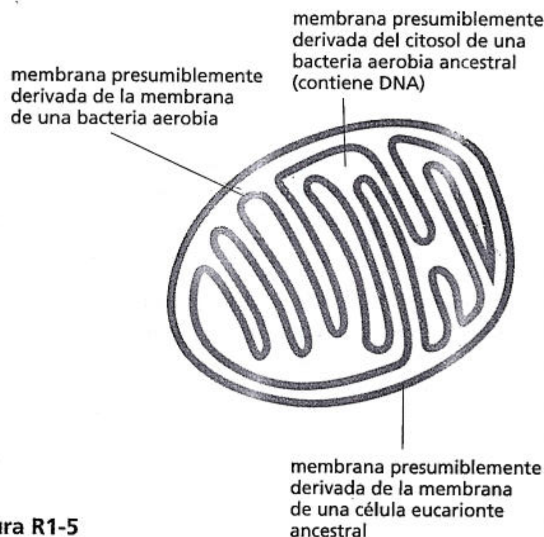


Figura R1-5

RESPUESTA 1-5 Véase figura R1-5.

RESPUESTA 1-6 Al fagocitar sustancias, como partículas de alimentos, las células eucariontes pueden secuestrarlas y alimentarse de ellas en forma eficiente. Por el contrario, las bacterias no tienen manera de capturar trozos de alimento; pueden exportar sustancias que ayudan a degradar las sustancias alimenticias del medio, pero después deben compartir los productos de este con otras células del mismo entorno.

RESPUESTA 1-7 La microscopia óptica es mucho más fácil de usar y requiere aparatos mucho más simples. Se pueden resolver con facilidad objetos de 1 μm; el límite inferior de resolución es de 0,2 μm, que es el límite teórico impuesto por la longitud de onda de la luz visible. La luz visible no es destructiva y atraviesa fácilmente el agua, lo que posibilita observar células vivas. Por otra parte, la microscopia electrónica es mucho más complicada, tanto en la preparación de la muestra (que debe ser seccionada en cortes sumamente delgados, teñida con metales pesados electrodensos y deshidratada por completo) como en el carácter del aparato. El microscopio electrónico no permite observar células vivas. Sin embargo, su resolución es mucho más alta, y se pueden resolver con facilidad objetos de tan solo 10 nm. Para visualizar cualquier detalle estructural, microtúbulos, mitocondrias y bacterias, se debería realizar el análisis mediante microscopia electrónica. De todos modos, es posible teñirlos con colorantes específicos y, después, determinar su localización por microscopia óptica.

RESPUESTA 1-8 Como el funcionamiento básico de las células es tan similar, se ha aprendido mucho del estudio de sistemas modelo. La levadura de cerveza es un buen sistema modelo porque las células de levadura son mucho más simples que las células cancerosas humanas. Podemos hacer crecer levadura de manera económica y en grandes cantidades, y podemos manipular genética y bioquímicamente las células de levadura con mucha más facilidad que las células humanas. Esto permite utilizar la levadura para descifrar las reglas básicas que rigen la división y el crecimiento celulares. Las células cancerosas se dividen cuando no deberían hacerlo y, como consecuencia, originan tumores. Por lo tanto, un conocimiento básico de cómo se controla la división celular es directamente pertinente al problema del cáncer. De hecho, el National Cancer Institute, la American Cancer Society y muchas otras instituciones dedicadas a encontrar una cura para el cáncer apoyan con firmeza la investigación básica sobre diversos aspectos de la división celular en diferentes sistemas modelo, como la levadura.

RESPUESTA 1-9 Controle sus respuestas consultando el glosario y la lámina 1-2 (p. 25).

RESPUESTA 1-10

A. Falso. La información hereditaria está codificada en el DNA de la célula, que, a su vez, especifica sus proteínas.
B. Verdadero. Las bacterias no tienen núcleo.
C. Falso. Las plantas están compuestas por células eucariontes que contienen cloroplastos como orgánulos citoplasmáticos. Se considera que los cloroplastos derivan evolutivamente de células procariontes.
D. Verdadero. La cantidad de cromosomas varía de un organismo a otro, pero es constante en todas las células del mismo organismo.
E. Falso. El citosol es el citoplasma, excluidos todos los orgánulos.
F. Verdadero. La envoltura nuclear es una doble membrana, y las mitocondrias están rodeadas de una membrana interna y una externa.
G. Falso. Los protozoos son organismos unicelulares y, por lo tanto, no tienen diferentes tejidos. De todos modos, presentan una estructura compleja con partes altamente especializadas.
H. De alguna manera, verdadero. Los peroxisomas y los lisosomas contienen enzimas que catalizan la degradación de sustancias producidas en el citosol o captadas por la célula. Sin embargo, es posible argumentar que muchas de estas sustancias son degradadas y generan moléculas de alimento y, como tales, sin duda no son "no deseadas".

RESPUESTA 1-11 Una célula cerebral promedio pesa 10^{-9} g (= 1.000 g/10^{-12}). Como 1 g de agua ocupa 1 mL = 1 cm^3 (= 10^{-6} m^3), el volumen de una célula es 10^{-15} m^3 (= 10^{-9} g × 10^{-6} m^3/g). Tomando la raíz cúbica, la longitud de un lado es de 10^{-5} m, o 10 μm (10^6 μm = 1 m) para cada célula. La página del libro tiene una superficie de 0,057 m^2 (= 21 cm × 27,5 cm), y cada célula tiene una huella de 10^{-10} m^2 (10^{-5} m × 10^{-5} m). Por lo tanto, 57 × 10^7 (= 0,057 m^2 × 10^{-10} m^2) células cubren esta página cuando se las extiende como una sola capa. Así, 10^{12} células ocuparían 1.750 páginas (= 10^{12}/[57× 10^7]).

RESPUESTA 1-12 En esta célula vegetal, A es el núcleo, B es una vacuola, C es la pared celular y D es un cloroplasto. La barra de escala es alrededor de 10 μm, el ancho de un núcleo.

RESPUESTA 1-13 Los tres filamentos principales son filamentos de actina, los filamentos intermedios y los microtúbulos. Los filamentos de actina participan en el movimiento celular rápido, como la contracción de un músculo; los filamentos intermedios aportan estabilidad mecánica, como en las células epidérmicas de la piel; y los microtúbulos funcionan como "vías de ferrocarril" para los movimientos intracelulares y son responsables de la separación de los cromosomas durante la división celular. En el capítulo 17 se analizan otras funciones de estos filamentos.

RESPUESTA 1-14 Demanda sólo 20 horas, es decir, menos de un día, que las células mutantes se vuelvan más abundantes en el cultivo. Aplicando la ecuación presentada en la pregunta, se observa que el número de las células bacterianas originales ("tipo silvestre") a *t* minutos después de que se produjera la mutación es de $10^6 \times 2^{t/20}$. La cantidad de células mutantes en el tiempo *t* es de $1 \times 2^{t/15}$. Para descubrir cuándo las células mutantes "superan" a las células de tipo silvestre, sólo hay que igualar estos dos números entre sí (es decir, $10^6 \times 2^{t/20} = 2^{t/15}$). Tomando el logaritmo en base 10 de los dos términos de esta ecuación y resolviéndolo para *t*, se obtiene $t = 1.200$ minutos (o 20 horas). En este momento, el cultivo contiene 2×10^{24} células ($10^6 \times 2^{60} + 1 \times 2^{80}$). Incidentalmente, 2×10^{24} células bacterianas, que pesan cada una 10^{-12} g, pesarían 2×10^{12} g (= 2×10^9 kg, o ¡2 millones de toneladas!). Esto sólo puede haber sido un experimento teórico.

RESPUESTA 1-15 Las bacterias adquieren continuamente mutaciones de su DNA. En la población de células expuestas al tóxico, una o algunas células pueden adquirir una mutación que las vuelva resistentes a la acción del fármaco. Por ejemplo, los antibióticos que son tóxicos para las bacterias porque se unen a ciertas proteínas bacterianas no funcionarían si las proteínas presentaran un ligero cambio de su superficie, de manera que la unión fuera más débil o no se produjera. Estas bacterias mutantes continuarían dividiéndose con rapidez, mientras que sus primas lo harían con más lentitud. Las bacterias resistentes al antibiótico pronto se convertirían en la especie predominante del cultivo.

RESPUESTA 1-16 $10^{13} = 2^{(t/1)}$. Por lo tanto, demandaría sólo 43 días [$t = 13/\log(2)$]. Esto explica por qué algunos cánceres pueden progresar con extrema rapidez. Sin embargo, muchas células cancerosas se dividen más lentamente o mueren por sus anormalidades internas o porque no reciben suficiente irrigación y, por lo tanto, la progresión real del cáncer suele ser más lenta.

RESPUESTA 1-17 Las células vivas evolucionaron de materia inerte, pero crecen y se replican. Al igual que el material del que se originaron, están regidas por las leyes de la física, la termodinámica y la química. Así, por ejemplo, no pueden generar energía *de novo* ni construir estructuras ordenadas sin gasto de energía. Se pueden comprender casi todos los fenómenos celulares, como metabolismo, catálisis, ensamblaje de membranas y replicación del DNA, como reacciones químicas complejas que pueden ser reproducidas, manipuladas y estudiadas experimentalmente.
Pese a esta reducción fundamental, una célula viva es más que la suma de sus partes. Por ejemplo, no se pueden mezclar proteínas, ácidos nucleicos y otras sustancias químicas de manera aleatoria en un tubo de ensayo y fabricar una célula. La célula funciona gracias a su estructura organizada, y ésta es un producto de su historia evolutiva. Las células siempre provienen de células preexistentes, y la división de una célula madre pasa tanto componentes químicos como estructuras a sus hijas. Por ejemplo, la membrana plasmática nunca tiene que formarse *de novo*, sino que crece por expansión de una membrana preexistente; siempre habrá un ribosoma, compuesto en parte por proteínas cuya función es fabricar más proteínas, incluidas las que forman más ribosomas.

RESPUESTA 1-18 En un organismo pluricelular, diferentes células cumplen funciones especializadas y cooperan entre sí. De esta manera, los organismos pluricelulares pueden aprovechar fuentes alimentarias que son inaccesibles para organismos unicelulares. Por ejemplo, una planta puede alcanzar el suelo con sus raíces para captar agua y nutrientes y, al mismo tiempo, obtener energía lumínica y CO_2 del aire a través de sus hojas. Al proteger sus células reproductoras con otras células especializadas, el organismo pluricelular puede desarrollar nuevas maneras de sobrevivir en ambientes rigurosos o de combatir predadores. Cuando se termina el alimento, puede preservar sus células reproductoras permitiéndoles que utilicen los recursos almacenados por sus compañeras o, incluso, que coman a sus familiares (de hecho, un proceso común).

RESPUESTA 1-19 El volumen y la superficie son $5,24 \times 10^{-19}$ m^3 y $3,14 \times 10^{-12}$ m^2 en la célula bacteriana y $1,77 \times 10^{-15}$ m^3 y $7,07 \times 10^{-10}$ m^2 en la célula animal, respectivamente. A partir de estas cifras, las relaciones superficie-volumen son 6×10^6 m^{-1} y 4×10^5 m^{-1}, respectivamente. En otras palabras, si bien la célula animal tiene un volumen 3.375 veces mayor, su superficie de membrana sólo es 225 veces más grande. En cambio, si se incluyen en el cálculo las membranas internas, las relaciones superficie-volumen de ambas células son más o menos iguales. Así, debido a sus membranas internas, las células eucariontes pueden crecer más y mantener, aun así, una superficie de membrana suficientemente grande, que –como se analizará con más detalle en capítulos posteriores– se requiere para muchas funciones esenciales.

RESPUESTA 1-20 Hay numerosas líneas de evidencia de un antepasado común. Los análisis de las células vivas modernas muestran un asombroso grado de similitud de los componentes básicos que conforman el funcionamiento interno de células por lo demás muy diferentes. Por ejemplo, muchas vías metabólicas se conservan de una célula a otra, y los compuestos que forman los ácidos nucleicos y las proteínas son los mismos en todas las células vivas, aunque es fácil imaginar que una elección diferente de compuestos (p. ej., aminoácidos con cadenas laterales distintas) habrán funcionado igual de bien. De modo similar, es frecuente encontrar que proteínas importantes tienen estructuras detalladas muy semejantes en células procariontes y eucariontes. En teoría, habría muchas maneras de fabricar proteínas que podrían cumplir las mismas funciones. Existe evidencia abrumadora que muestra que los procesos más importantes fueron "inventados" sólo una vez y, después, se refinaron durante la evolución adaptándose a las necesidades particulares de células especializadas.
Sin embargo, parece improbable que la primera célula sobreviviera y se convirtiera en la célula fundadora primordial del mundo vivo actual. Como la evolución no es un proceso dirigido con una progresión deliberada, es más probable que haya habido un vasto número de células de prueba no exitosas que se replicaron por un tiempo y, después, se extinguieron porque no se pudieron adaptar a los cambios del ambiente o no pudieron sobrevivir a la competencia con otros tipos de células. Por lo tanto, cabe especular que la célula ancestral primordial fue una célula "afortunada" que encontró un medio relativamente estable donde tuvo la posibilidad de replicarse y evolucionar.

RESPUESTA 1-21 Véase figura R1-21.

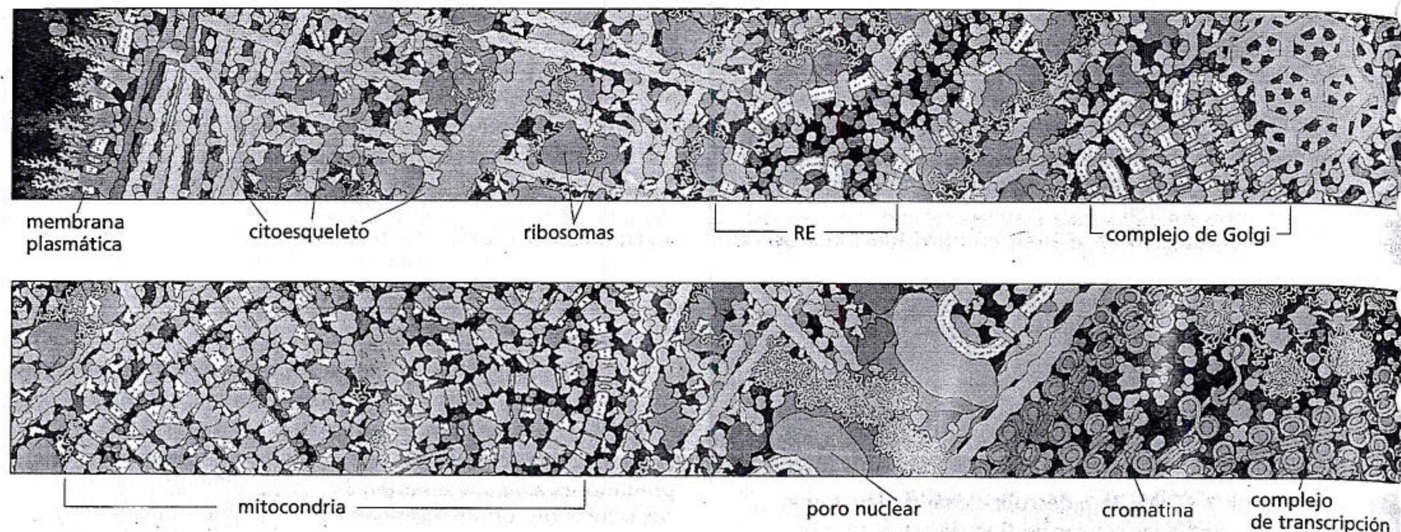


Figura R1-21. Cortesía de D. Goodsell.

RESPUESTA 1-22 Una inspección rápida podría revelar cilios propulsores en la superficie celular; su presencia le diría que la célula es eucarionte. Si no los observa –y es bastante probable que no lo haga– tendrá que buscar otras características distintivas. Si tiene suerte, podría visualizar la división celular. Después, observándola con la óptica apropiada, podría ver cromosomas mitóticos condensados, lo que reafirmaría que es un eucarionte. Fije la célula y tíñala con un colorante para DNA; si éste se encuentra dentro de un núcleo bien definido, la célula es un eucarionte; si no puede visualizar un núcleo definido, la célula puede ser un procarionte. Alternativamente, tíñala con un colorante que se fije a la actina o a la tubulina (proteínas muy conservadas en los eucariontes, pero ausentes en las bacterias). Incluya la célula, secciónela y obsérvela con un microscopio electrónico: ¿puede ver orgánulos, por ejemplo mitocondrias, en el interior de la célula? Intente teñirla con coloración de Gram, que es específica para moléculas de la pared celular de algunas clases de bacterias. Pero todas estas pruebas pueden fallar y dejarlo con la incertidumbre. Para obtener una respuesta definitiva, podría intentar analizar las secuencias de las moléculas de DNA y de RNA que contiene mediante métodos complejos descritos más adelante en este libro. Las secuencias de moléculas altamente conservadas, como las que forman los componentes centrales del ribosoma, suministran una firma molecular que le puede decir si la célula es un eucarionte, una bacteria o una arquea. Si no puede detectar ningún RNA, es probable que no esté observando una célula, sino un fragmento de suciedad.

Capítulo 2

RESPUESTA 2-1 Las probabilidades son excelentes, debido a la enorme magnitud del número de Avogadro. La taza original contenía un mol de agua o 6×10^{23} moléculas, y el volumen de los océanos del mundo, convertido a centímetros cúbicos es de $1{,}5 \times 10^{24}$ cm^3. Después de mezclar, habría un promedio de 0,4 de una molécula de agua "griega" por cm^3 ($6 \times 10^{23}/1{,}5 \times 10^{24}$) o 7,2 moléculas de agua "griegas" en 18 g de Océano Pacífico.

RESPUESTA 2-2

A. El número atómico es 6; el peso atómico es 12 (= 6 protones + 6 neutrones).

B. El número de electrones es 6 (= número de protones).

C. El primer orbital puede contener 2 electrones, y el segundo, 8. Por lo tanto, el carbono necesita otros 4 electrones (o tendría que ceder 4 electrones) para completar su orbital más externo. El carbono tiene estabilidad máxima cuando comparte cuatro electrones adicionales con otros átomos (incluidos otros átomos de carbono) formando enlaces covalentes.

D. El carbono-14 tiene 2 neutrones más en el núcleo. Como las propiedades químicas de un átomo dependen de sus electrones, el carbono-14 es químicamente idéntico al carbono-12.

RESPUESTA 2-3 La afirmación es correcta. Tanto los enlaces iónicos como los covalentes se basan en los mismos principios: los electrones pueden ser compartidos por igual por dos átomos que interactúan, lo que forma un enlace covalente, o los electrones pueden ser perdidos completamente por un átomo y ganados por el otro, lo que forma un enlace iónico. Hay enlaces de todos los estados intermedios concebibles, y en los casos límite, es arbitrario describir un enlace como enlace covalente muy polar o como enlace iónico.

RESPUESTA 2-4 La afirmación es correcta. El enlace hidrógeno-oxígeno de las moléculas de agua es polar, de manera que el átomo de oxígeno tiene una carga más negativa que los átomos de hidrógeno. Estas cargas negativas parciales son atraídas por los iones sodio de carga positiva, pero son repelidas por los iones cloruro de carga negativa.

RESPUESTA 2-5

A. Los iones hidronio (H_3O^+) se forman por la disociación del agua en protones e iones hidroxilo; cada protón se une a una molécula de agua para formar un ión hidronio ($2H_2O \rightarrow H_2O + H^+ + OH^- \rightarrow H_3O^+ + OH^-$). A pH neutro, es decir, en ausencia de un ácido que aporte más iones H_3O^+ o de una base que aporte más iones OH^-, las concentraciones de estos dos iones son iguales. Sabemos que en condiciones de neutralidad el pH = 7, y por lo tanto, la concentración de H^+ es de 10^{-7}. La concentración de H^+ iguala la concentración de H_3O^+.

B. Para calcular la relación de iones H_3O^+ con moléculas de H_2O, es necesario conocer la concentración de moléculas de agua. El peso molecular del agua es 18 (es decir, 18 g/mol), y 1 litro de agua pesa 1 kg. Por lo tanto, la concentración

de agua es 55,6 M (= 1.000 [g/L]/[18 g/mol]), y la relación de iones H_3O^+ con moléculas de H_2O es $1,8 \times 10^{-9}$ (= $10^{-7}/55,6$); es decir, sólo dos moléculas de agua en mil millones se disocian a pH neutro.

RESPUESTA 2-6 Ningún error. Obsérvese que los pequeños átomos de hidrógeno son los que están unidos a un átomo de oxígeno, mientras que los unidos a un átomo de carbono son más grandes. Esto refleja la polaridad de los enlaces respectivos: el enlace H–C es no polar, mientras que el enlace H–O es polar. El oxígeno aleja con más fuerza los electrones compartidos del hidrógeno, lo que determina un menor radio de la nube de electrones del átomo de hidrógeno.

RESPUESTA 2-7 La síntesis de una macromolécula con una estructura única exige que, en cada posición, sólo se use un estereoisómero. El cambio de un aminoácido de su forma L a su forma D daría por resultado una proteína diferente. Así, si interviniera una mezcla aleatoria de formas D y L de cada aminoácido en la fabricación de una proteína, su secuencia de aminoácidos no especificaría una sola estructura, sino muchas estructuras distintas (2^N estructuras diferentes, donde N es el número de aminoácidos de la proteína).
Por qué se seleccionaron durante la evolución L-aminoácidos como componentes exclusivos de las proteínas es un misterio; se podría imaginar con facilidad una célula con ciertos aminoácidos (o incluso todos) utilizados en sus formas D para construir proteínas, en tanto estos estereoisómeros particulares se utilizaron exclusivamente.

RESPUESTA 2-8 El término "polaridad" se puede usar de dos maneras diferentes. En una acepción, se refiere a la asimetría direccional: p. ej., en polímeros lineales como los polipéptidos, que tienen un N-terminal y un C-terminal; o en ácidos nucleicos, que tiene un extremo 3' y 5'. Como los enlaces sólo se forman entre los grupos amino y carboxilo de los aminoácidos de un polipéptido, y entre los extremos 3' y 5' de un ácido nucleico, los ácidos nucleicos y los polipéptidos siempre tienen dos extremos diferentes, que otorgan a la cadena una polaridad química definida.
En la otra acepción, polaridad hace referencia a una separación de la carga eléctrica en un enlace o en una molécula. Esta clase de polaridad promueve los enlaces de hidrógeno con moléculas de agua, y como la hidrosolubilidad o hidrofilia de una molécula depende de su polaridad en este sentido, el término "polar" también indica hidrosolubilidad.

RESPUESTA 2-9 Una ventaja importante de las reacciones de condensación es que se revierten con facilidad mediante hidrólisis (y el agua es de fácil acceso en la célula). Esto permite que las células degraden sus macromoléculas (o macromoléculas de otros organismos que fueron ingeridos como alimento) y recuperen las subunidades intactas, de manera que puedan ser "recicladas", es decir, usadas para construir nuevas macromoléculas.

RESPUESTA 2-10 Muchas de las funciones que realizan las macromoléculas se basan en su capacidad para asociarse y disociarse con facilidad. Esto permite que las células, por ejemplo, remodelen su interior cuando se mueven o se dividen, y que transporten componentes de un orgánulo a otro. Los enlaces covalentes serían demasiado fuertes y demasiado permanentes para un propósito de este tipo.

RESPUESTA 2-11
A. Verdadero. Todos los núcleos están formados por protones de carga positiva y por neutrones sin carga; la única excepción es el núcleo del hidrógeno que está formado sólo por un protón.
B. Falso. Los átomos son eléctricamente neutros. La cantidad de protones con carga positiva siempre es equilibrada por una cantidad igual de electrones con carga negativa.
C. Verdadero, pero sólo para el núcleo celular (véase Cap. 1) y no para el núcleo atómico analizado en este capítulo.
D. Falso. Los elementos pueden tener distintos isótopos, que difieren sólo en la cantidad de neutrones.
E. Verdadero. En ciertos isótopos, el gran número de protones desestabiliza el núcleo, que se descompone en un proceso denominado desintegración radiactiva.
F. Verdadero. Los ejemplos son los gránulos de glucógeno, un polímero de la glucosa, hallado en los hepatocitos; y las gotitas de grasa, compuestos de triacilgliceroles agregados, halladas en los adipocitos.
G. Verdadero. En forma individual, estos enlaces son débiles, y el movimiento térmico los rompe con facilidad, pero como las interacciones entre dos macromoléculas involucran una gran cantidad de enlaces de este tipo, la unión global puede ser bastante fuerte, y como los enlaces de hidrógeno se forman sólo entre grupos correctamente ubicados en las macromoléculas que interactúan, son muy específicos.

RESPUESTA 2-12
A. Una molécula de celulosa tiene un peso molecular de $n \times$ ($12[C] + 2 \times 1[H] + 16[O]$). No se conoce n, pero se puede determinar la relación con la que cada elemento contribuye al peso de la celulosa. La contribución de los átomos de carbono es del 40% [= $12/(12 + 2 + 16) \times 100\%$]. Por lo tanto, la celulosa que compone esta página contiene 2 g (40% de 5 g) de átomos de carbono. El peso atómico del carbono es de 12 g/mol, y hay 6×10^{23} átomos o moléculas en un mol. Por lo tanto, 10^{23} átomos de carbono [= (2 g/12 [g/mol]) $\times 6 \times 10^{23}$ (moléculas/mol)] componen esta página.
B. El volumen de esta página es 4×10^{-6} m^3 (= 21,2 cm $\times$ 27,6 cm $\times$ 0,07 mm), que es el mismo volumen de un cubo con un lado de 1,6 cm (= $\sqrt[3]{4 \times 10^{-6} m^3}$). Como sabemos por la parte A que la página contiene 10^{23} átomos de carbono, la geometría indica que podría haber alrededor de $4,6 \times 10^7$ átomos de carbono (= $\sqrt[3]{10^{23}}$) alineados a lo largo de cada lado de este cubo. Por lo tanto, en la celulosa, alrededor de 200.000 átomos de carbono (= $4,6 \times 10^7 \times 0,07 \times 10^{-3}$ m/$1,6 \times 10^{-2}$ m) abarcan el espesor de esta página.
C. Si se apilan en forma compacta, 350.000 átomos de carbono de 0,2 nm de diámetro abarcarían los 0,07 nm de espesor de esta página.
D. La diferencia de 1,7 veces en los dos cálculos refleja (1) que el carbono no es el único átomo de la celulosa y (2) que el papel no es un entramado atómico de moléculas dispuestas con precisión (como sería un diamante para átomos de carbono dispuestos precisamente), sino una red aleatoria de fibras que contiene muchos huecos.

RESPUESTA 2-13
A. La ocupación de los tres niveles de electrones más internos son 2, 8, 8.

B.	helio	ya tiene el nivel completo
	oxígeno	gana 2
	carbono	gana 4 o pierde 4
	sodio	pierde 1
	cloro	gana 1

C. El helio con su nivel electrónico totalmente ocupado no es químicamente reactivo. El sodio y el cloro, por el contrario, son en extremo reactivos y forman con facilidad iones Na^+ y Cl^- que forman enlaces iónicos, como en la sal de mesa.

RESPUESTA 2-14 Un átomo de azufre es mucho más grande que un átomo de oxígeno, y dado su tamaño más grande, los electrones más externos no son atraídos con tanta fuerza hacia el núcleo del átomo de azufre como en el átomo de oxígeno. En consecuencia, el enlace hidrógeno-azufre es mucho menos polar que el enlace hidrógeno-oxígeno. Dada la menor polaridad, el azufre de una molécula de H_2S no es atraído con fuerza hacia los átomos de hidrógeno de una molécula igual adyacente, y no se forman los enlaces de hidrógeno que predominan tanto en el agua.

RESPUESTA 2-15 Las reacciones están esquematizadas en la figura R2-15, donde R_1 y R_2 son cadenas laterales de aminoácidos.

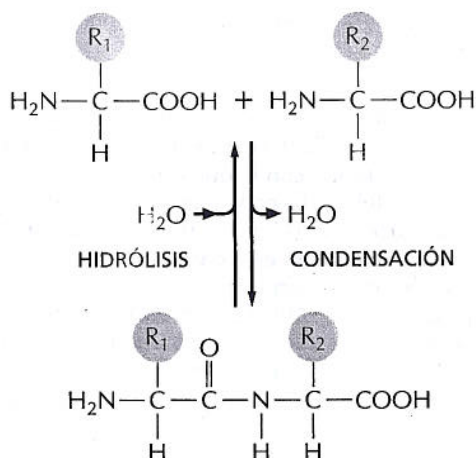


Figura R2-15

RESPUESTA 2-16

A. Falso. Las propiedades de una proteína dependen de los aminoácidos que contiene y el orden en el que se unen. La diversidad de las proteínas se debe a la cantidad casi ilimitada en la que se pueden combinar 20 aminoácidos diferentes en una secuencia lineal.

B. Falso. Los lípidos se ensamblan en bicapas mediante fuerzas no covalentes. Por lo tanto, una membrana no es una macromolécula.

C. Verdadero. El esqueleto de los ácidos nucleicos está formado por ribosa (o desoxirribosa en el DNA) y grupos fosfato. La ribosa y la desoxirribosa son azúcares.

D. Verdadero. Alrededor de la mitad de los 20 aminoácidos naturales tienen cadenas laterales hidrófobas. En las proteínas plegadas, muchas de estas cadenas laterales enfrentan el interior de las proteínas plegadas, porque son repelidas por el agua.

E. Verdadero. Las colas hidrocarbonadas hidrófobas contienen sólo enlaces no polares. Así, no pueden participar en enlaces de hidrógeno y son repelidas por el agua. En el capítulo 11, se consideran en más detalle los principios básicos.

F. Falso. El RNA contiene las cuatros bases enumeradas, pero el DNA contiene T en lugar de U. De todos modos, T y U se asemejan mucho y sólo difieren en un único grupo metilo.

RESPUESTA 2-17

A. (a) 400 (= 20^2); (b) 8.000 (= 20^3); (c) 160.000 (= 20^4).

B. Una proteína con un peso molecular de 4.800 daltons está compuesto por alrededor de 40 aminoácidos; por ende, hay $1,1 \times 10^{52}$ (= 20^{40}) maneras diferentes para formar una proteína de este tipo. Cada molécula de proteína pesa 8×10^{-21} g (= $4.800/6 \times 10^{23}$); así, una mezcla de una molécula cada una pesa 9×10^{31} g (= 8×10^{-21} g $\times 1,1 \times 10^{52}$), que es 15.000 veces el peso total del planeta Tierra, que pesa 6×10^{24} kg. De hecho, necesitará un recipiente bastante grande.

C. Dado que la mayoría de las proteínas celulares son aun más grandes que la usada en este ejemplo, es evidente que las células vivas utilizan sólo una fracción minúscula de todas las secuencias posibles de aminoácidos.

RESPUESTA 2-18 Como todas las células vivas están compuestas por sustancias químicas y como las reacciones químicas (en las células vivas o en los tubos de ensayo) cumplen las mismas reglas, el conocimiento de los principios químicos básicos tiene una importancia fundamental para comprender la biología. En el curso de este libro, se harán frecuentes referencias a estos principios, sobre los cuales se basan todas las vías y reacciones más complicadas que tienen lugar en las células.

RESPUESTA 2-19

A. Los enlaces de hidrógeno requieren la interacción de grupos específicos; uno es siempre un átomo de oxígeno unido por un enlace polar a un oxígeno o a un nitrógeno, y el otro suele ser un átomo de nitrógeno o de oxígeno. Las atracciones de van der Waals son más débiles y se producen entre dos átomos cualesquiera que estén lo suficientemente próximos. Tanto los enlaces de hidrógeno como las atracciones de van der Waals son interacciones de corto alcance que entran a jugar cuando dos moléculas ya están cerca. Por lo tanto, ambos tipos de enlace pueden ser considerados como un medio de "refinar" una interacción, es decir, de ayudar a posicionar correctamente dos moléculas entre sí una vez que han sido reunidas por difusión.

B. En los tres ejemplos, se formarían atracciones de van der Waals. En (c), sólo se formarían enlaces de hidrógeno.

RESPUESTA 2-20 Entre las subunidades de las macromoléculas, se forman interacciones no covalentes –p. ej., las cadenas laterales aminoacídicas de una cadena polipeptídica– y hacen que la cadena polipeptídica adopte una forma singular. Estas interacciones incluyen enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas, interacciones de van der Waals e interacciones hidrófobas. Como estas interacciones son débiles, se pueden romper con relativa facilidad; así, la mayoría de las macromoléculas pueden ser desplegadas por calentamiento, que aumenta el movimiento térmico.

RESPUESTA 2-21 Las moléculas anfipáticas tienen un extremo hidrófilo y un extremo hidrófobo. Sus extremos hidrófilos pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua, pero ésta repele sus extremos hidrófobos porque interfieren con su estructura. En consecuencia, los extremos hidrófobos de las moléculas anfipáticas tienden a estar expuestos al aire en superficies de contacto aire-agua, o siempre se agruparán para minimizar el contacto con las moléculas de agua, tanto ahí como en el interior de una solución acuosa. (Véase Fig. R2-21).

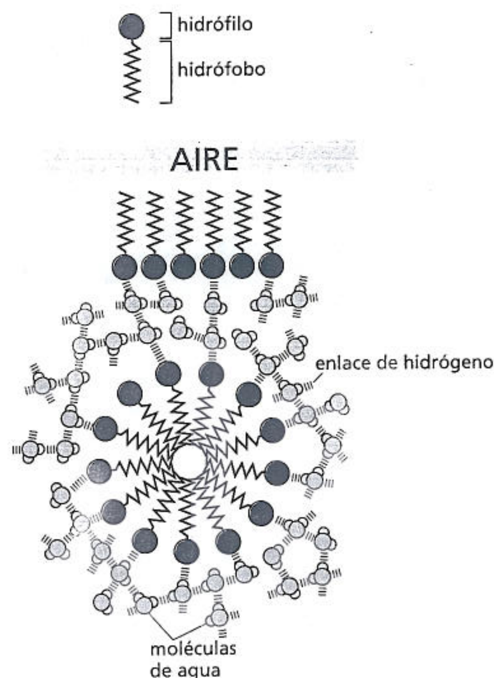


Figura R2-21

RESPUESTA 2-22

A, B. Tanto (A) como (B) son fórmulas correctas del aminoácido fenilalanina. En la fórmula (B), se muestra la fenilalanina en la forma ionizada presente en solución acuosa, donde el grupo amino básico está protonado, y el grupo carboxílico ácido, desprotonado.

C. Incorrecto. A esta estructura de un enlace peptídico le falta un átomo de hidrógeno unido al nitrógeno.

D. Incorrecto. Esta fórmula de la base adenina contiene un doble enlace de más, lo que crea un átomo de carbono pentavalente y un átomo de nitrógeno tetravalente.

E. Incorrecto. En esta fórmula de un nucleósido trifosfato, debe haber otros dos átomos de oxígeno, uno entre cada uno de los átomos de fósforo.

F. Ésta es la fórmula correcta del etanol.

G. Incorrecto. El agua no forma enlaces de hidrógeno con hidrógenos unidos a carbono. La incapacidad de formar enlaces de hidrógeno torna hidrófobas, es decir que rechazan el agua, a las cadenas hidrocarbonadas.

H. Incorrecto. El Na y el Cl forman un enlace iónico, Na^+Cl^-, pero se ha dibujado un enlace covalente.

I. Incorrecto. El átomo de oxígeno atrae electrones con más fuerza que el átomo de carbono; por lo tanto, se debe invertir la polaridad de los dos enlaces.

J. Esta estructura de la glucosa es correcta.

K. Casi correcto. Es más exacto mostrar que sólo se pierde un hidrógeno del grupo $-NH_2$ y que el grupo –OH se pierde del grupo –COOH.

Capítulo 3

RESPUESTA 3-1 La ecuación representa la "línea de base" de una gran serie de reacciones individuales que son catalizadas por muchas enzimas distintas. Como los azúcares son moléculas más complicadas que el CO_2 y el H_2O, la reacción genera un estado más ordenado dentro de la célula. Según exige la segunda ley de la termodinámica, se genera calor en muchos pasos de la larga vía que da origen a los productos resumidos en esta ecuación.

RESPUESTA 3-2 Oxidación se define como la eliminación de electrones. Por lo tanto, (A) es una oxidación, y (B) es una reducción. El átomo de carbono *negro* de (C) permanece, en gran medida, sin ser modificado; en cambio, el átomo de carbono vecino pierde un átomo de hidrógeno (es decir, un electrón y un protón) y, por ende, se oxida. El átomo de carbono *negro* de (D) se oxida porque pierde un átomo de hidrógeno, mientras que el átomo de carbono *negro* de (E) se reduce porque gana un átomo de hidrógeno.

RESPUESTA 3-3

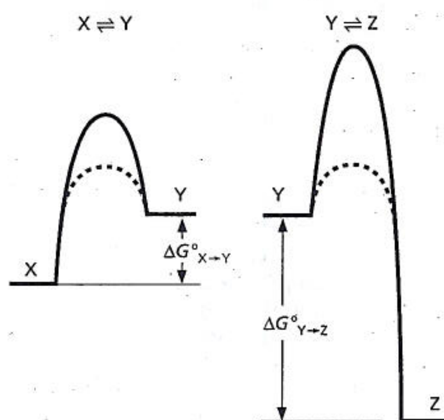
A. Ambos estados de la moneda, H y T, tienen igual probabilidad. Por lo tanto, no hay ninguna fuerza impulsora, es decir, ninguna diferencia de energía, que favorezca que H gire a T, o viceversa. Por lo tanto, $\Delta G° = 0$ para esta reacción. En cambio, se produce una reacción si la caja no contiene una cantidad igual de monedas H y T. En este caso, la diferencia de concentración entre H y T genera una fuerza impulsora, un $\Delta G \neq 0$, para la reacción, hasta que ésta alcanza el equilibrio, es decir, hasta que hay igual número de H y de T.

B. El grado de agitación corresponde a la temperatura, pues determina el movimiento "térmico" de las monedas. La energía de activación de la reacción es la energía que se necesita gastar para dar vuelta la moneda; es decir, para colocarla de canto, desde donde puede caer sobre un lado o el otro. La "agitasa" aceleraría el movimiento al reducir la energía requerida para éste; por ejemplo, podría ser un imán que, suspendido por encima de la caja que ayuda a levantar las monedas. La agitasa no influiría en condiciones de equilibrio (con una cantidad igual de H y de T), pero aceleraría el proceso de alcanzar el equilibrio, porque en su presencia más monedas se darían vuelta hacia uno u otro lado.

RESPUESTA 3-4 Véase la figura R3-4. Obsérvese que $\Delta G°$ X → Y es positivo, mientras que $\Delta G°$ Y → Z y $\Delta G°$ X → Z son negativos. El gráfico también muestra que $\Delta G°$ X → Z = $\Delta G°$ X → Y + $\Delta G°$ Y → Z. No se sabe a partir de la información de la figura 3-12 qué tan altas son las barreras de energía de activación; por lo tanto, se las dibuja de una altura arbitraria (líneas llenas). Serían reducidas por enzimas que catalizan estas reacciones, lo que aceleraría las velocidades de reacción (líneas interrumpidas).

RESPUESTA 3-5 Las velocidades de reacción podrían estar limitadas por (1) la concentración del sustrato, es decir, con qué frecuencia choca una molécula de CO_2 con el sitio activo de la enzima; (2) cuántas de estas colisiones son energéticamente suficientes para inducir una reacción; y (3) con qué rapidez puede liberar la enzima los productos de la reacción y, por lo tanto, quedar libre para unirse al siguiente sustrato. El diagrama de la figura R3-5 muestra que al reducir la barrera de la energía de activación, más moléculas tienen energía suficiente para presentar la reacción. El área bajo la curva desde el punto A hasta energía infinita o desde el punto B hasta energía infinita indica la cantidad total de moléculas que reaccionarán sin la enzima o con ella, respectivamente. Si bien no está dibujada a escala, la relación de estas dos áreas debe ser de 10^7.

RESPUESTA 3-6 Todas las reacciones son reversibles. Si el compuesto AB se puede disociar y producir A y B, también debe



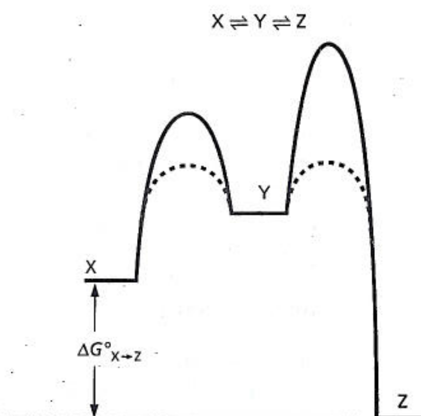


Figura R3-4

ser posible que A y B se asocien y formar AB. El predominio de alguna de las dos reacciones depende de la constante de equilibrio y de la concentración de A, B y AB (como se analiza en la figura 3-19). Presumiblemente, cuando esta enzima se aisló, su actividad fue detectada suministrando cantidades relativamente grandes de A y B y midiendo la cantidad de AB generada. Sin embargo, se puede suponer que en la célula hay una alta concentración de AB, de manera que, en condiciones normales, la enzima cataliza AB → A + B. (Esta pregunta se basa en un ejemplo real en el que se aisló una enzima y se la denominó según la reacción que catalizaba en una dirección, pero más tarde se observó que, en las células vivas, catalizaba la reacción inversa).

RESPUESTA 3-7

A. Las rocas de la figura 3-30B aportan la energía para elevar el balde de agua. El ATP impulsa la reacción; por lo tanto, el ATP corresponde a las rocas en la parte alta del acantilado. Los fragmentos rotos corresponden al ADP y al P_i, los productos del ATP después de que ha liberado su energía y realizado su trabajo. En la reacción, la hidrólisis del ATP se acopla con la conversión de X en Y. Por lo tanto, X es el material inicial, el balde en el suelo, que es convertido en Y, el balde en su punto más alto.

B. (i) La roca que golpea el suelo sería la hidrólisis inútil del ATP. En ausencia de una enzima que utilice la energía de la hidrólisis del ATP para impulsar una reacción de lo contrario desfavorable, la energía almacenada en el enlace fosfoanhidrico se perdería como calor. (ii) La energía almacenada en Y se podría usar para impulsar otra reacción. Si Y representase la forma activada del aminoácido X, por ejemplo, podría participar en una reacción de condensación y formar un enlace peptídico durante la síntesis de proteínas.

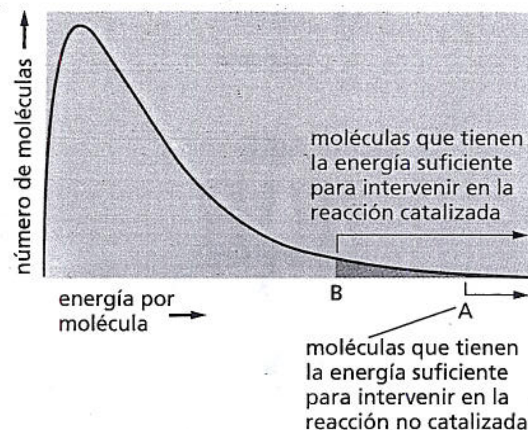


Figura R3-5

RESPUESTA 3-8 El ΔG de energía libre derivado de la hidrólisis del ATP depende del $\Delta G°$ y de las concentraciones del sustrato y de los productos. Por ejemplo, para una serie particular de concentraciones, se podría tener

$$\Delta G = -12 \text{ kcal/mol} = -7{,}3 \text{ kcal/mol} + 0{,}616 \ln [\text{ADP}] \times [\text{P}]/[\text{ATP}]$$

ΔG es menor que $\Delta G°$, en gran medida porque la concentración de ATP de las células es alta (del orden milimolar), y la concentración de ADP es baja (del orden de los 10 μM). Por lo tanto, el término concentración de esta ecuación es menor que 1, y su logaritmo es un número negativo.
$\Delta G°$ es una constante de la reacción que no variará con las condiciones de ésta. En cambio, ΔG depende de las concentraciones de ATP, ADP y fosfato, que pueden ser algo diferentes entre las células.

RESPUESTA 3-9 Las reacciones B, C, D y E necesitan acoplarse a otras reacciones energéticamente favorables. En cada caso, se forman estructuras de orden superior que son más complicadas y tienen enlaces de energía más alta que los materiales iniciales. Por el contrario, la reacción A es una reacción catabólica que genera compuestos de menor estado de energía y se producirá en forma espontánea.

RESPUESTA 3-10

A. Casi verdadero, pero en términos estrictos, falso. Como las enzimas aumentan la velocidad pero no modifican el punto de equilibrio de una reacción, una reacción siempre se producirá en ausencia de la enzima, aunque a menudo a una velocidad minúscula. Además, las reacciones que compiten pueden usar el sustrato con más rapidez, lo que obstaculiza aun más la reacción deseada. Así, en términos prácticos, algunas reacciones pueden no tener lugar nunca en un grado apreciable de no mediar una enzima.

B. Falso. Los electrones de alta energía son transferidos con más facilidad, es decir, están unidos de manera más laxa con la molécula donante. Esto no significa que se muevan con mayor rapidez.

C. Verdadero. La hidrólisis de una molécula de ATP que forma AMP también produce una molécula de pirofosfato (PP_i), que a su vez es hidrolizada a dos moléculas de fosfato. Esta segunda reacción libera casi la misma cantidad de energía que la hidrólisis inicial del ATP, lo que aproximadamente duplica el rendimiento energético.

D. Verdadero. La oxidación consiste en la eliminación de electrones, que reduce el diámetro del átomo de carbono.

E. Verdadero. Por ejemplo, el ATP puede donar energía de enlace químico y un grupo fosfato.

F. Falso. Las células vivas tienen una clase particular de química en la que la mayoría de las oxidaciones son fenómenos que liberan energía; en condiciones diferentes, sin embargo, como en una atmósfera que contiene hidrógeno, las reducciones serían eventos liberadores de energía.

G. Falso. Todas las células, incluidas las de animales de sangre fría y de sangre caliente, irradian cantidades comparables de calor como consecuencia de sus reacciones metabólicas. Por ejemplo, en las células bacterianas, esto se evidencia cuando se calienta una pila de abono.

H. Falso. La constante de equilibrio de la reacción $X \rightleftharpoons Y$ no se modifica. Si Y es eliminado por una segunda reacción, más X se convierte en Y, de manera que la relación de X respecto de Y se mantiene constante.

RESPUESTA 3-11 La diferencia de energía libre ($\Delta G°$) entre Y y X debida a tres enlaces de hidrógeno es de –3 kcal/mol. (Obsérvese que la energía libre de Y es más baja que la de X, porque se necesitaría gastar energía para romper los enlaces y convertir Y en X. Por lo tanto, el valor de $\Delta G°$ para la transición $X \rightarrow Y$ es negativa). Así, la constante de equilibrio de la reacción es de alrededor de 100 (del cuadro 3-1, p. 96); es decir, hay 100 veces más moléculas de Y que de X en equilibrio. Otros tres enlaces de hidrógeno más incrementarían el $\Delta G°$ a –6 kcal/mol y aumentarían la constante de equilibrio otras 100 veces hasta 10^4. Por lo tanto, diferencias relativamente pequeñas de energía pueden ejercer un efecto importante sobre el equilibrio.

RESPUESTA 3-12

A. La constante de equilibrio se define como $K = [AB]/[A] \times [B]$. Los corchetes indican la concentración. Así, si hay 1 µM (10^{-6} M) de A, B y AB, K será 10^6 M^{-1} [= $10^{-6}/(10^{-6} \times 10^{-6})$].

B. De modo similar, si hay 1 µM (10^{-9} M) de A, B y AB, K será de 10^9 M^{-1}.

C. Este ejemplo ilustra que las proteínas que interactúan presentes en las células en concentraciones más bajas deben unirse entre sí con alta afinidad, de manera que una fracción significativa de las moléculas estén unidas en condiciones de equilibrio. En este caso particular, reducir la concentración en tres órdenes de magnitud (de µM a nM) exige un cambio de la constante de equilibrio de tres órdenes de magnitud para mantener el complejo proteico AB (que corresponde a –4,3 kcal de energía libre; véase cuadro 3-1). Esto corresponde a alrededor de cuatro o cinco enlaces de hidrógeno adicionales.

RESPUESTA 3-13 La afirmación es correcta. El criterio para decidir si una reacción se produce en forma espontánea es ΔG, no $\Delta G°$, y tiene en cuenta las concentraciones de los componentes de la reacción. Por ejemplo, una reacción con un $\Delta G°$ negativo no se produciría espontáneamente en condiciones donde haya un gran exceso suficiente de productos, es decir, más que en equilibrio. Por el contrario, una reacción con un $\Delta G°$ positivo podría avanzar en forma espontánea en condiciones en las que no hay un gran exceso de sustratos.

RESPUESTA 3-14

A. Un máximo de 57 moléculas de ATP (= 686/12) corresponde a la energía total liberada por la oxidación completa de glucosa a CO_2 y H_2O.

B. La eficiencia global de la producción de ATP sería de alrededor del 53%, calculado como la relación de las moléculas de ATP producidas que se podrían tener si toda la energía almacenada en una molécula de glucosa se pudiese obtener como energía química en ATP (57).

C. Durante la oxidación de un mol de glucosa, se liberarían 322 kcal (el 47% restante de las 686 kcal de un mol de glucosa que no son almacenadas como energía química en el ATP) como calor. Esta cantidad de energía calentaría su cuerpo en 4,3°C (= 322 kcal/75 kg). Ésta es una cantidad de calor significativa si se considera que 4°C de aumento de la temperatura sería una fiebre bastante incapacitante y que 1 mol (100 g) de glucosa no es más que dos tazas de azúcar.

D. Si la energía generada fuese sólo del 20%, en lugar del 47% del ejemplo previo, el 80% de la energía disponible se liberaría como calor y debería ser disipada del cuerpo. La producción de calor sería 1,7 veces más alta que la normal, y el cuerpo sin duda se sobrecalentaría.

E. La fórmula química del ATP es $C_{10}H_{12}O_{13}N_5P_3$, y por ende, su peso molecular es de 503 g/mol. Por lo tanto, su cuerpo en reposo hidroliza alrededor de 80 moles (= 40 kg/0,503 kg/mol) de ATP en 24 horas (esto corresponde a alrededor de 1.000 kcal de energía química liberada). Como cada mol de glucosa genera 30 moles de ATP, esta cantidad de energía se podría producir mediante la oxidación de 480 g de glucosa (= 180 g/mol × 80 moles/30).

RESPUESTA 3-15 Este científico es definitivamente un farsante. Las 57 moléculas de ATP almacenarían 684 kcal (= 57 × 12 kcal) de energía química, lo que implica que la eficiencia de la producción de ATP habría sido mayor del 99%. Este grado de eficiencia imposible prácticamente no dejaría energía para ser liberada como calor, y se requiere esta liberación según las leyes de la termodinámica.

RESPUESTA 3-16

A. Por el cuadro 3-1 (p. 96), se sabe que una diferencia de energía libre de 4,3 kcal/mol corresponde a una constante de equilibrio de 10^{-3}, es decir, $[A^*]/[A] = 10^{-3}$. Por lo tanto, la concentración de A* es 1.000 veces más baja que la de A.

B. La relación de A respecto de A* no se modificaría. La reducción de la barrera de la energía de activación aceleraría la velocidad de la reacción, es decir, permitiría que más moléculas se convirtieran de $A \rightarrow A^*$ y de $A^* \rightarrow A$ en un período dado, pero no afectaría el punto de equilibrio.

RESPUESTA 3-17

A. Es probable que el hongo mutante se pueda comer sin riesgos. La hidrólisis del ATP puede aportar alrededor de –12 kcal/mol de energía. Esta cantidad de energía desplaza el punto de equilibrio de una reacción en un factor enorme: alrededor de 10^8 veces (en el cuadro 3-1, p. 96, se observa que –5,7 kcal/mol corresponden a una constante de equilibrio de 10^4; así, –12 kcal/mol corresponden a alrededor de 10^8. Obsérvese que en las reacciones acopladas las energías se suman, mientras que las constantes de equilibrio se multiplican. Por lo tanto, si la energía de la hidrólisis del ATP no puede ser utilizada por la enzima, se fabrica 10^8 veces menos tóxico. Este ejemplo ilustra que acoplar una reacción a la hidrólisis de una molécula transportadora activada puede desplazar de manera sustancial el punto de equilibrio.

B. Sería riesgoso consumir este hongo mutante. El enlentecimiento de la velocidad de la reacción no incidiría en su punto de equilibrio, y si se permitiera que la reacción prosiguiera durante un período suficientemente largo, es proba-

ble que el hongo estuviese cargado de tóxico. Quizá no se alcanzaría el equilibrio de la reacción, pero no sería aconsejable arriesgarse.

RESPUESTA 3-18 La enzima A es beneficiosa. Permite la interconversión de dos moléculas transportadoras de energía, que son requeridas en la forma trifosfato para numerosas reacciones metabólicas. Cualquier ADP formado es convertido con rapidez en ATP, y así, la célula mantiene una alta relación ATP/ADP. Debido a la enzima A, denominada nucleósido fosfocinasa, parte del ATP se utiliza para mantener una relación GTP/GDP similarmente alta.
La enzima B sería muy deletérea para la célula. Las células usan NAD+ como aceptor de electrones en reacciones catabólicas y deben mantener altas concentraciones de esta forma del transportador para degradar la glucosa y fabricar ATP. En cambio, el NADPH se utiliza como donante de electrones en reacciones biosintéticas, y las células lo mantienen en altas concentraciones lo que permite la síntesis de nucleótidos, ácidos grasos y otras moléculas esenciales. Como la enzima B agotaría las reserva celulares de NAD+ y de NADPH, disminuiría las velocidades de las reacciones tanto catabólicas como biosintéticas.

RESPUESTA 3-19 Como las enzimas son catalizadores, las reacciones enzimáticas tienen que ser factibles desde el punto de vista termodinámico; la enzima sólo reduce la barrera de la energía de activación que, de lo contrario, enlentece la velocidad de la reacción. El calor confiere más energía cinética a los sustratos, de manera que una fracción mayor de ellos puede superar la barrera de energía de activación normal. Sin embargo, muchos sustratos tienen numerosas maneras diferentes de reaccionar, y todas estas posibles vías serían aumentadas por el calor, mientras que una enzima confiere selectividad y facilita sólo una determinada vía que, durante la evolución, fue elegida por ser útil para la célula. Por lo tanto, el calor no puede reemplazar la función de la enzima, y la sopa de pollo debe de ejercer sus efectos beneficiosos por otros mecanismos aún no descubiertos.

RESPUESTA 3-20
A. Cuando [S] << K_M , el término [S] + K_M se aproxima a la K_M . Por lo tanto, la ecuación se simplifica a velocidad = $V_{máx}/K_M$ [S], es decir, la velocidad es proporcional a [S].

B. Cuando [S] = K_M , el término [S]/([S] + K_M) es igual a ½. Por lo tanto, la velocidad de la reacción es la mitad de la velocidad máxima $V_{máx}$.

C. Si [S] es >> K_M , el término ([S] + K_M) se acerca a [S]. Por lo tanto, [S]/([S] + K_M) es igual a 1, y la reacción se produce a su velocidad máxima $V_{máx}$.

RESPUESTA 3-21 La concentración de sustrato es de 1 mM. Este valor se puede obtener sustituyendo los valores de la ecuación, pero es más simple observar que la velocidad deseada (50 µmol/seg) es exactamente la mitad de la velocidad máxima, $V_{máx}$, en la que la concentración del sustrato suele ser igual a la K_M . Los dos gráficos requeridos se muestran en la figura 3R-21. Un gráfico de 1/velocidad en función de 1/[S] es una línea recta, porque el reordenamiento de la ecuación da la ecuación presentada en la pregunta 3-23B.

RESPUESTA 3-22 Si [S] es mucho menor que la K_M, el sitio activo de la enzima está, en su mayor parte, desocupado. Si [S] es mucho mayor que la K_M, la velocidad de la reacción está limitada por la concentración de la enzima (porque la mayoría de los sitios catalíticos están ocupados por completo).

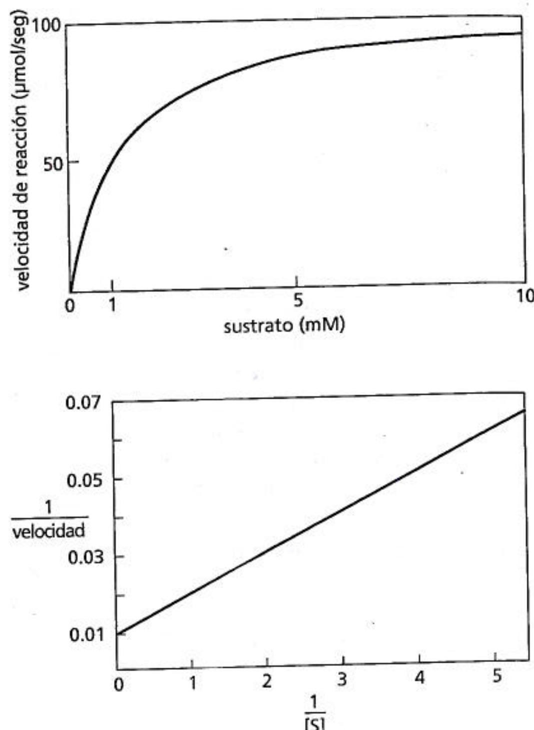


Figura R3-21

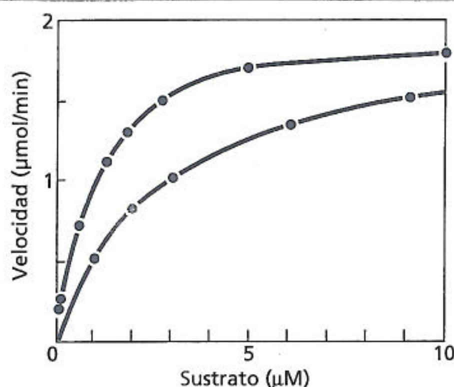
RESPUESTA 3-23
A, B. Los datos de los recuadros se han utilizado para graficar la curva roja y la línea roja de la figura P3-23. A partir de los datos graficados, la K_M es de 1 µM y la $V_{máx}$ es de 2 µmol/min. Obsérvese que los datos son mucho más fáciles de interpretar en el gráfico lineal, porque la curva de (A) se acerca a la $V_{máx}$, pero nunca la alcanza.

C. Es importante que se fabrique sólo una pequeña cantidad de producto, porque de lo contrario la velocidad de reacción disminuiría a medida que se agotara el sustrato y se acumulara el producto. Así, las velocidades medidas serían más bajas de lo que deberían ser.

D. Si la K_M aumenta, la concentración de sustrato necesaria para alcanzar la mitad de la velocidad máxima también aumenta. Como se requiere más sustrato para producir la misma velocidad, la reacción catalizada por enzima ha sido inhibida por la fosforilación. Los gráficos de datos previstos para la enzima fosforilada son la curva verde y la línea verde de la figura R3-23.

Capítulo 4

RESPUESTA 4-1 La urea es una molécula muy pequeña que funciona como un donante eficiente de enlaces de hidrógeno (a través de sus grupos $-NH_2$) y como un aceptor eficiente de enlaces de hidrógeno (a través de su grupo –C=O). Como tal, puede introducirse entre enlaces de hidrógeno que estabiliza moléculas de proteína y, así, desestabilizar estructuras proteicas. Además, las cadenas laterales no polares se mantienen juntas en el interior de las proteínas plegadas, porque alterar la estructura del agua si son expuestas. Con altas concentraciones de urea, la red de enlaces de hidrógeno de moléculas de agua se altera de manera que estas fuerzas hidrófobas disminuyen en forma significativa. Las proteínas se despliegan en



DATOS PARA A Y B

[S] (μM)	$\frac{1}{[S]}\left[\frac{1}{\mu M}\right]$	Velocidad (μmol/min)	$\frac{1}{Velocidad}\left[\frac{min}{\mu mol}\right]$
0,08	12,50	0,15	6,7
0,12	8,30	0,21	4,8
0,54	1,85	0,70	1,4
1,23	0,81	1,1	0,91
1,82	0,56	1,3	0,77
2,72	0,37	1,5	0,67
4,94	0,20	1,7	0,59
10,00	0,10	1,8	0,56

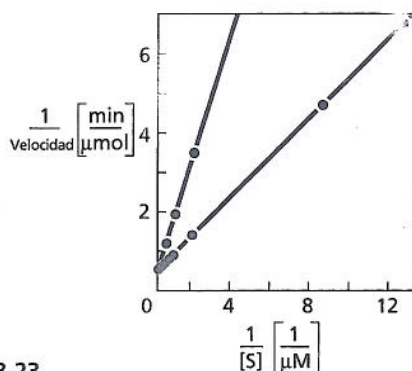


Figura R3-23

presencia de urea como consecuencia de su efecto sobre estas dos fuerzas.

RESPUESTA 4-2 Hay dos hélices α y ambas son dextrógiras. Las tres cadenas que forman la región más grande de la hoja β (*verde*) son antiparalelas. No hay nudos en la cadena polipeptídica, presumiblemente porque un nudo interferiría con el plegamiento de la proteína en su conformación tridimensional después de su síntesis.

RESPUESTA 4-3 La secuencia de aminoácidos consiste en aminoácidos no polares y cargados o polares. Por lo tanto, la cadena resultante en una hoja β sería polar de un lado e hidrófoba del otro. Es probable que una cadena de este tipo estuviera rodeada a cada lado por cadenas similares que formarían juntas una hoja β con una cara hidrófoba y una polar. En una proteína, esta hoja β (denominada "anfipática", del griego *amphi*, "de ambas clases", y *pathos*, "pasión", debido a sus dos superficies con propiedades tan diferentes) estaría posicionada de modo que el lado hidrófobo enfrentara el interior de la proteína, y el lado polar estuviera en su superficie, expuesto al agua exterior.

RESPUESTA 4-4 Durante la evolución, se seleccionan mutaciones que eran beneficiosas para un organismo porque le conferían una ventaja de crecimiento o de supervivencia. Los ejemplos podrían ser la mejor utilización de una fuente alimenticia; mayor resistencia a agresiones ambientales, como calor o sal concentrada; o mayor habilidad para atraer a una pareja para la reproducción sexual. Por el contrario, la acumulación de proteínas inútiles es deletérea para los organismos. Las proteínas mutantes inútiles desperdician la energía metabólica requerida para fabricarlas. Si se produjeran en exceso estas proteínas mutantes, la síntesis de proteínas normales sufriría porque la capacidad de la célula es limitada. En casos más graves, las proteínas mutantes interfieren con las funciones normales de la célula; una enzima mutante que, aun así, se une a una molécula transportadora activada, pero no cataliza una reacción, puede competir, por ejemplo, por una cantidad limitada de este transportador e inhibir de esta manera procesos normales. Por lo tanto, la selección natural aporta una intensa fuerza impulsora que induce la pérdida de proteínas tanto inútiles como nocivas.

RESPUESTA 4-5 Los agentes reductores fuertes que rompen todos los enlaces S–S determinarían que todos los filamentos de queratina se separasen. Por ende, el cabello se desintegraría. De hecho, las cremas depilatorias que se venden en las farmacias contienen agentes reductores fuertes. En cambio, los agentes reductores débiles se utilizan en tratamientos que alisan u ondulan el cabello. (Véase Fig. P4-5).

RESPUESTA 4-6 Véase Fig. R4-6.

RESPUESTA 4-7

A. La inhibición por retroalimentación de Z que afecta la reacción B → C aumentaría el flujo a través de la vía B → X → Y → Z, porque inhibe la conversión de B en C. Así, cuanto más alta sea la concentración de Z, más se estimulará la producción de Z. Es probable que esto determine una amplificación "galopante" descontrolada de esta vía.

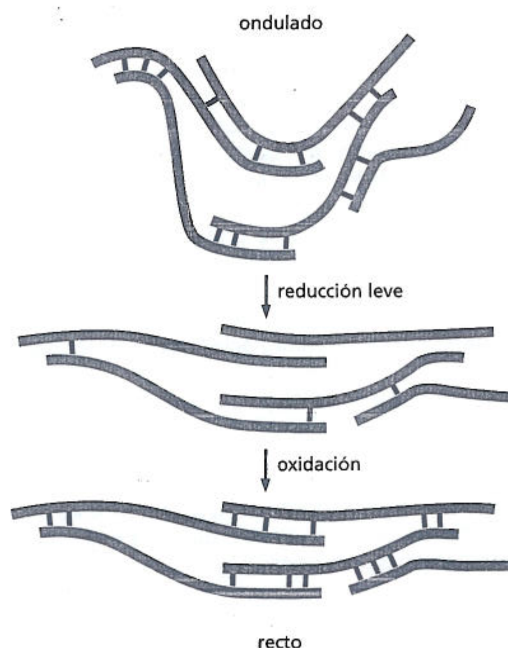


Figura R4-5

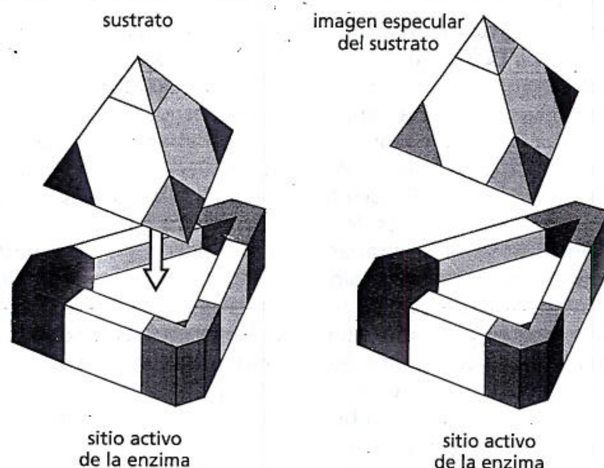


Figura R4-6

B. La inhibición por retroalimentación de Z que afecta Y → Z controla la producción de Z. Sin embargo, en este esquema, X e Y todavía se producen a velocidades normales, aunque estos dos intermediarios ya no son necesarios en este nivel. Por lo tanto, esta vía es menos eficiente que la mostrada en la figura 4-34.

C. Si Z es un regulador positivo del paso B → X, cuanto más alta sea la concentración de Z, más cantidad de B se convertirá en X y, por lo tanto, será derivado a la vía, lo que producirá más cantidad de Z. Esto determinaría una amplificación descontrolada similar a la descrita en (A).

D. Si Z es un regulador positivo del paso B → C, la acumulación de Z induce un redireccionamiento de la vía para fabricar más C. Ésta es una segunda manera posible, además de la mostrada en la figura, de equilibrar la distribución de compuestos en las dos ramas de la vía.

RESPUESTA 4-8 Tanto la unión de nucleótidos como la fosforilación pueden inducir cambios alostéricos en las proteínas. Éstos pueden tener numerosas consecuencias, como alteración de la actividad enzimática, cambios sustanciales de forma y cambios de afinidad por otras proteínas o moléculas pequeñas. Ambos mecanismos son bastante versátiles. Una ventaja de la unión de nucleótidos es la rápida velocidad con la que un nucleótido pequeño puede difundir hacia la proteína; los cambios de forma que acompañan la función de las proteínas motoras, por ejemplo, requieren rápida reposición de nucleótidos. Por ejemplo, si los diferentes estados conformacionales de una proteína motora se controlaran por fosforilación, una proteincinasa debería difundir hacia la posición en cada paso, un proceso mucho más lento, o asociarse de manera permanente con cada motor. Una ventaja de la fosforilación es que requiere sólo un residuo aminoácido en la superficie de la proteína, en lugar de un sitio de unión específico. Por lo tanto, se pueden añadir fosfatos a muchas cadenas laterales diferentes de la misma proteína (en tanto haya proteincinasas con las especificidades apropiadas), lo que aumenta mucho la complejidad de regulación que se puede lograr para una sola proteína.

RESPUESTA 4-9 Al actuar como un complejo, las tres proteínas contribuyen a la especificidad (por unir directamente la caja fuerte y la llave), ayudan a posicionar una a la otra correctamente y aportan el sostén mecánico que les permite realizar una tarea que no podrían llevar a cabo en forma individual (p. ej., la llave es sujetada por dos subunidades). Además, sus funciones suelen estar coordinadas temporalmente (p. ej., es probable que la unión de ATP a una subunidad requiera que el ATP ya haya sido hidrolizado a ADP por otra).

RESPUESTA 4-10

A. Verdadero. Sólo unas pocas cadenas laterales de aminoácidos contribuyen al sitio activo. El resto de la proteína es necesaria para mantener la cadena polipeptídica en la posición correcta, aportar otros sitios de unión que cumplen fines reguladores y localizar la proteína en la célula.

B. Verdadero. Algunas enzimas forman intermediarios covalentes con sus sustratos (véase Fig. 13-5); sin embargo, en todos los casos, la enzima recupera su estructura original después de la reacción.

C. Falso. Las hojas β pueden contener, en principio, cualquier número de cadenas, porque las dos cadenas que forman los bordes de la hoja son accesibles a las otras cadenas para formar enlaces de hidrógeno. (Las hojas β de proteínas conocidas contienen de 2 a 16 cadenas).

D. Falso. Es verdad que la especificidad de una molécula de anticuerpo depende exclusivamente de los bucles de su superficie; sin embargo, estos bucles son aportados por dominios plegados tanto de las cadenas livianas como de las cadenas pesadas.

E. Falso. Las posibles disposiciones lineales de los aminoácidos que determinan un dominio proteico plegado de modo estable son tan pocas que la mayoría de las proteínas nuevas evolucionan por modificación de las antiguas.

F. Verdadero. Por lo general, las enzimas alostéricas se unen a una o más moléculas que funcionan como reguladores en sitios distintos del sitio activo.

G. Falso. Los enlaces no covalentes contribuyen de manera importante a la estructura tridimensional de las macromoléculas.

H. Falso. La cromatografía de afinidad separa moléculas específicas debido a sus interacciones con determinados ligandos, no debido a su carga.

I. Falso. Cuanto más grande es el orgánulo, más fuerza centrífuga experimenta y más rápido sedimenta, pese a la mayor resistencia de fricción del líquido a través del cual se mueve.

RESPUESTA 4-11 En una hélice α y en las cadenas centrales de una hoja β, todos los grupos N–H y C=O del esqueleto polipeptídico participan en enlaces de hidrógeno. Esto confiere considerable estabilidad a estos elementos de la estructura secundaria, y les permite formarse a partir de muchas secuencias de aminoácidos diferentes.

RESPUESTA 4-12 No. No tendría la misma estructura y ni siquiera una similar, porque el enlace peptídico tiene una polaridad. Si se observan dos aminoácidos secuenciales de una cadena polipeptídica, el aminoácido que está más cerca del extremo N-terminal aporta el grupo carboxilo, y el otro aminoácido aporta el grupo amino al enlace peptídico que los une. Cambiar su orden colocaría a las cadenas laterales en una posición diferente con respecto al esqueleto peptídico y, por lo tanto, cambiaría su ambiente químico.

RESPUESTA 4-13 Como se necesitan 3,6 residuos aminoácidos para completar un giro de una hélice α, esta secuencia de 14 aminoácidos permitiría casi 4 giros completos. Es notable porque sus aminoácidos polares e hidrófobos están espaciados de manera que todos los residuos polares están de un lado de una hélice α, y todos los residuos hidrófobos, del otro. Por lo

tanto, es posible que una hélice α tan anfipática esté expuesta en la superficie de la proteína con su lado hidrófobo hacia el interior de ésta. Además, dos hélices de este tipo se podrían enrollar una alrededor de la otra, como se muestra en la figura 4-13.

RESPUESTA 4-14

A. ES representa el complejo enzima-sustrato.

B. Enzima y sustrato se encuentran en equilibrio entre sus estados libre y ligado; una vez unida a la enzima, una molécula de sustrato se puede disociar otra vez (de ahí las flechas bidireccionales) o convertirse en producto. Sin embargo, a medida que el sustrato se convierte en producto (con la consiguiente liberación de energía libre), una reacción suele proceder firmemente en dirección anterógrada, como indica la flecha unidireccional.

C. La enzima es un catalizador y, por lo tanto, es liberada sin modificaciones después de la reacción; así, E aparece en ambos términos de la ecuación.

D. A menudo, los productos de la reacción se asemejan a los sustratos lo suficiente para poder unirse también a la enzima. Cualquier molécula de enzima unida al producto (es decir, que forme parte del complejo EP) no está disponible para la catálisis; por lo tanto, el exceso de producto inhibe la reacción al reducir la concentración de E libre.

E. El compuesto X es un inhibidor de la reacción y actúa de manera similar formando un complejo EX. Sin embargo, como se debe formar P antes de que pueda inhibir la reacción, tarda más en actuar que X, que está presente desde el comienzo de la reacción.

RESPUESTA 4-15 Es más probable que los aminoácidos polares Ser, Ser-P, Lys, Gln, His y Glu se hallen en la superficie de una proteína, y que los aminoácidos hidrófobos Leu, Phe, Val, Ile y Met se encuentren en su interior. La oxidación de dos residuos cisteína que forman un enlace disulfuro elimina su potencial para formar enlaces de hidrógeno y, por lo tanto, los vuelve aun más hidrófobos. Por lo general, se encuentran enlaces disulfuro en el interior de las proteínas. Independientemente del carácter de sus cadenas laterales, la mayoría de los aminoácidos C-terminal contienen un grupo cargado (los grupos amino y carboxilo terminal que marcan los extremos de la cadena polipeptídica) y, por ende, se suelen hallar en la superficie de la proteína.

RESPUESTA 4-16 Muchos elementos de la estructura secundaria no son estables cuando están aislados y requieren la presencia de otras partes de la cadena polipeptídica. Las regiones hidrófobas que, normalmente quedarían ocultas en el interior de un dominio plegado, estarían expuestas al exterior, y como estas regiones no son energéticamente favorecidas en solución acuosa, los fragmentos tienden a agregarse de manera inespecífica. Por lo tanto, estos fragmentos no tendrían una estructura definida y serían inactivos para la unión del ligando, aunque contuvieran todos los aminoácidos que suelen contribuir al sitio de unión del ligando. En cambio, se considera que un dominio proteico es una unidad de plegamiento, y los fragmentos de una cadena polipeptídica que corresponden a dominios intactos, con frecuencia, se pueden plegar correctamente. Así, los dominios proteicos separados suelen conservar sus actividades, como la unión al ligando, si el sitio de unión está contenido por completo dentro de este dominio. Entonces, el lugar más probable en el que se podría seccionar la cadena polipeptídica de la proteína de la figura 4-16 para dar origen a fragmentos estables es el límite entre los dos dominios (es decir, en el bucle entre las dos hélices α en la parte inferior derecha de la estructura mostrada).

RESPUESTA 4-17 La inactivación por calor de la enzima indica que la mutación hace que la enzima tenga una estructura menos estable. Por ejemplo, un enlace de hidrógeno que normalmente se forma entre dos cadenas laterales de aminoácidos podría ya no formarse porque la mutación reemplaza uno de estos aminoácidos por uno diferente que no puede participar en el enlace. En ausencia de un enlace de este tipo que, en general, ayuda a mantener la cadena polipeptídica plegada de manera correcta, la proteína se despliega a una temperatura a la que, en general, sería estable. Las cadenas polipeptídicas que se desnaturalizan cuando se eleva la temperatura a menudo se agregan, y rara vez se vuelven a plegar en proteínas activas cuando disminuye la temperatura.

RESPUESTA 4-18 La proteína motora de la ilustración se puede mover con tanta facilidad a la izquierda como a la derecha y, por lo tanto, no se moverá en forma sostenida en una dirección. En cambio, si sólo uno de los pasos se acopla con hidrólisis del ATP (por ejemplo, al hacer que el desprendimiento de un pie dependa de la unión de ATP y al acoplar la reinserción a la hidrólisis del ATP unido), la proteína presentará movimiento unidireccional que requiere consumo continuado de ATP. Obsérvese que, en principio, no importa qué paso se acople a la hidrólisis del ATP (Fig. R4-18).

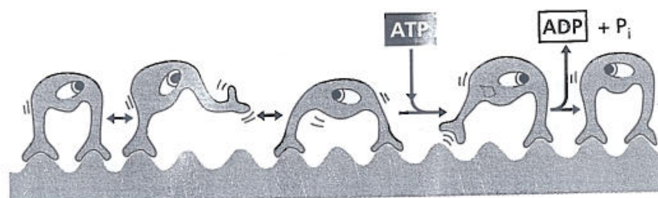


Figura R4-18

RESPUESTA 4-19 La migración más lenta de las moléculas pequeñas a través de la columna de filtración en gel se produce porque éstas tienen acceso a muchos más espacios de las microesferas porosas que contiene la columna que las moléculas más grandes. Sin embargo, es importante dar a las moléculas pequeñas el tiempo suficiente para que difundan hacia los espacios del interior de las microesferas. Con velocidades de flujo muy altas, todas las moléculas se moverán con rapidez alrededor de las microesferas, de manera que las moléculas grandes y pequeñas tenderán, ahora, a salir juntas de la columna.

RESPUESTA 4-20 La hélice α es dextrógira, y la disposición en espiral, levógira. La inversión se produce debido a las posiciones escalonadas de las cadenas laterales hidrófobas de la hélice α.

RESPUESTA 4-21 Los átomos en el sitio de unión de la proteína deben estar localizados con precisión para adaptarse a las moléculas a las que se unen. A su vez, su localización exige el posicionamiento exacto de muchos de los aminoácidos y sus cadenas laterales en el centro de la proteína, alejados del sitio de unión propiamente dicho. Así, un cambio incluso pequeño de este centro puede alterar la función de la proteína al modificar la conformación de un sitio de unión alejado.

Capítulo 5

RESPUESTA 5-1

A. Falso. La polaridad de la cadena de DNA, por lo general, se refiere a la orientación de su esqueleto de pentosa-fosfato.

B. Verdadero. Los pares de bases G-C se mantienen unidos por tres enlaces de hidrogeno, mientras que las bases A-T se mantienen unidas por dos enlaces.

RESPUESTA 5-2

La barra de escala en la figura 5-13 es en millones de pares de nucleótidos. Si se utiliza ésta para calcular la cantidad de DNA condensado en el cromosoma 1, se obtienen aproximadamente 256 millones de pares de nucleótidos. Esto daría para el DNA una longitud total 8,7 cm ($256 \times 10^6 \times 0,34$ nm; 1 nm = $1/10^9$ m) y una compactación de 8,7 cm/10 µm = 8.700 veces.

RESPUESTA 5-3

Los octámeros de histona ocupan alrededor del 9% del volumen del núcleo. El volumen del núcleo es

$$V = 4/3 \times 3,14 \times (3 \times 10^3 \text{ nm})^3$$

$$V = 1,13 \times 10^{11} \text{ nm}^3$$

El volumen del octámero de histona es

$$V = 3,14 \times (4,5 \text{ nm})^2 \times (5 \text{ nm}) \times (32 \times 10^6)$$

$$V = 1,02 \times 10^{10} \text{ nm}^3$$

La proporción entre el volumen del octámero de histona y el volumen nuclear es 0,09; por consiguiente, el octámero de histona ocupa más o menos el 9% del volumen nuclear. Dado que el DNA también ocupa alrededor del 9% del volumen nuclear, juntos abarcan un 18% del volumen del núcleo.

RESPUESTA 5-4

A diferencia de la mayor parte de las proteínas, que acumulan modificaciones de aminoácidos a lo largo de la evolución, las funciones de las histonas deben comprender casi todos sus aminoácidos, de modo que un cambio en cualquier posición es perjudicial para la célula. Las histonas están sumamente perfeccionadas para su función.

RESPUESTA 5-5

Los varones sólo tienen una copia del cromosoma X; por lo tanto, un gen defectuoso transportado por éste carece de copia de seguridad. En cambio, las mujeres tienen dos copias del cromosoma X, una heredada de cada progenitor, de modo que una copia defectuosa de un gen en un cromosoma X, por lo general, puede ser compensada por una copia normal en el otro cromosoma. Este es el caso del gen que causa la ceguera para el color. Sin embargo, durante el desarrollo femenino, la transcripción desde uno de los cromosomas X no se produce porque se compacta en heterocromatina (Fig. 5-30). Esto ocurre al azar en cada célula para uno u otro de los dos cromosomas X y, por lo tanto, algunas células de la mujer expresarán la copia mutante defectuosa del gen, mientras que otras expresarán la copia normal. Esto resulta en una retina en la que en promedio sólo uno de cada dos conos tiene una porción fotorreceptora funcional y en consecuencia las mujeres portadoras del gen mutante en un cromosoma X ven imágenes en color con una resolución reducida.

Una mujer con ceguera para el color debe tener dos copias defectuosas de este gen, una heredada de cada progenitor. Por lo tanto, su padre debe ser portador de la mutación en su cromosoma X; dado que ésta es su única copia del gen, padecería ceguera para el color. Su madre podría portar el gen defectuoso en cualquiera o en ambos cromosomas X y, por lo tanto, podría padecer ceguera para los colores (genes defectuosos en ambos cromosomas X) o tener conservada la visión de los colores pero con una resolución reducida, como se comentó antes. En la población humana existen varios tipos diferentes de ceguera para los colores hereditaria; esta pregunta concierne sólo a un tipo.

RESPUESTA 5-6

A. La cadena complementaria es 5′-TGATTGTGGACAAAAATCC-3′. Las cadenas de DNA apareadas tienen polaridad opuesta y por convención una secuencia de DNA monocatenario se escribe en la dirección 5′→3′.

B. El DNA está constituido por cuatro nucleótidos (100% = 13% A + *x*% T + *y*% G + *z*% C). Dado que A se aparea con T, en el DNA los dos nucleótidos están representados en proporciones equimolares. En consecuencia, el DNA bacteriano en cuestión contiene 13% de timidina. Esto deja un 74% [= 100% – (13% + 13%)] para G y C, que también forman pares de bases y por esa razón son equimolares. Por consiguiente, $y = z = 74/2 = 37$.

C. Una molécula de DNA monocatenario que tiene *N* nucleótidos de longitud puede presentar cualquiera de 4^N secuencias posibles, pero la cantidad posible de moléculas de DNA bicatenario es más difícil de calcular. Muchas de las secuencias monocatenarias 4^N serán el complemento de otra secuencia posible en la lista; por ejemplo, 5′-AGTCC-3′ y 5′-GGACT-3′ forman la misma molécula de DNA bicatenario y, por consiguiente, se cuenta como una única posibilidad de cadena doble. Si *N* es un número impar, entonces toda secuencia monocatenaria será complementaria de otra secuencia en la lista, de modo que la cantidad de secuencias bicatenarias será $0,5 \times 4^N$. Si *N* es un número par, entonces habrá ligeramente más que esto, dado que algunas secuencias serán complementarias de sí mismas (como 5′-ACTAGT-3′) y el valor real puede calcularse como $0,5 \times 4^N + 0,5 \times 4^{N/2}$.

D. Para especificar una secuencia exclusiva de *N* nucleótidos de longitud, 4^N tiene que ser mayor que 3×10^6. Por lo tanto, 4^N/mayor que 3×10^6, resuelto para *N*, da *N*/mayor que $\ln(3 \times 10^6)/\ln(4) = 10,7$. Así, una secuencia en promedio de solo 11 nucleótidos de longitud es exclusiva en el genoma. La realización del mismo cálculo para el tamaño del genoma de una célula animal da un segmento mínimo de 16 nucleótidos. Esto demuestra que una secuencia relativamente corta puede marcar una posición exclusiva en el genoma y que es suficiente, por ejemplo, para servir como marcador de identificación de un gen específico.

RESPUESTA 5-7

Si durante la duplicación del DNA se incorporasen con frecuencia bases erróneas, la información genética no podría heredarse en forma correcta. La vida como la conocemos podría no existir. Aunque, como se indicó, las bases pueden formar pares unidos por enlaces de hidrógeno, éstos no encajan en la estructura de la doble hélice. Por lo tanto, el ángulo con el cual el residuo A se une al esqueleto de pentosa-fosfato es muy diferente en el par A-C y el espacio entre las dos cadenas de pentosa-fosfato aumenta de forma considerable en el par A-G, donde interaccionan dos anillos grandes de purina. Como consecuencia, es energéticamente desfavorable incorpo-

rar bases erróneas a la cadena de DNA y esos errores sólo ocurren con muy poca frecuencia.

RESPUESTA 5-8

A. Las bases V, W, X e Y pueden formar una molécula helicoidal doble símil DNA con propiedades prácticamente idénticas a las del DNA auténtico. V siempre se aparea con X y W siempre con Y. Por lo tanto, las macromoléculas podrían derivar de un organismo vivo que utilizara los mismos principios de duplicación de su genoma. En principio, bases diferentes, por ejemplo V, W, X e Y, podrían haber sido seleccionadas durante la evolución como unidades estructurales del DNA en la Tierra. (Del mismo modo, son concebibles muchos más aminoácidos en cadenas laterales que el conjunto de los 20 seleccionados en la evolución que forman todas las proteínas).

B. Ninguna de las bases V, W, X o Y puede remplazar a A, T, G o C. Para conservar la distancia entre las dos cadenas de pentosa-fosfato en la doble hélice, una pirimidina siempre tiene que aparearse con una purina (véase, por ejemplo, Fig. 5-6). Así, las ocho combinaciones posibles son V-A, V-G, W-A, W-G, X-C, X-T, Y-C e Y-T. Sin embargo, a causa de las posiciones de los grupos aceptores y los grupos donantes de enlaces de hidrógeno, no podrían formarse pares de bases estables en ninguna de estas combinaciones, como se muestra para el apareamiento de V-A en la figura R5-8, donde podría formarse un solo enlace de hidrógeno.

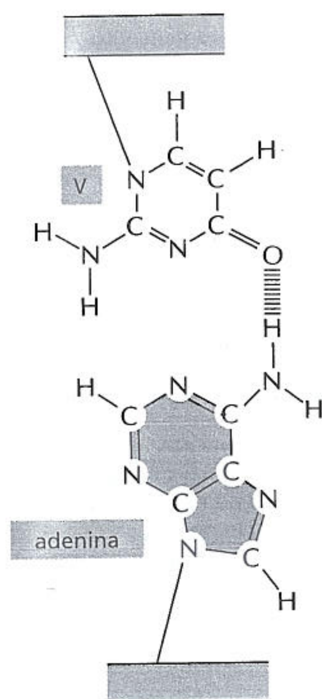


Figura R5-8

RESPUESTA 5-9

Dado que las cadenas se mantienen juntas mediante enlaces de hidrógeno entre las bases, la estabilidad de la hélice depende sobre todo de la cantidad de enlaces de hidrógeno que puedan formarse. Por lo tanto, dos parámetros determinan la estabilidad: la cantidad de pares de nucleótidos y la cantidad de enlaces de hidrógeno con el que contribuye cada par de nucleótidos. Como se muestra en la figura 5-6, un par A-T contribuye con dos enlaces de hidrógeno, mientras que un par G-C lo hace con tres enlaces de hidrógeno. Por consiguiente, la hélice C (que contiene un total de 34 enlaces de hidrógeno) se desnaturaliza a la temperatura más baja, la hélice B (que contiene un total de 65 enlaces de hidrógeno) es la siguiente en desnaturalizarse y la hélice A (que contiene un total de 78 enlaces de hidrógeno) es la más estable, principalmente por su contenido elevado de GC. En efecto, el DNA de los organismos que proliferan en ambientes con temperaturas extremas, como ciertas bacterias que se desarrollan en los respiraderos geotérmicos, tiene una concentración alta, poco habitual, de GC.

RESPUESTA 5-10

El DNA sería ampliado por un factor de $2{,}5 \times 10^6$ ($= 5 \times 10^{-3}/2 \times 10^{-9}$ m). Por lo tanto, el cable de extensión sería de 2.500 km de longitud. Esta es más o menos la distancia de Londres a Estambul, de San Francisco a Kansas City, de Tokio al extremo sur de Taiwán y de Melbourne a Cairns. Los nucleótidos contiguos estarían a una distancia de alrededor de 0,85 mm (que sólo es más o menos el espesor de una pila de 12 páginas de este libro). Un gen con una extensión de 1.000 pares de nucleótidos tendría unos 85 cm de longitud.

RESPUESTA 5-11

A. Hacen falta dos bits para especificar cada par de nucleótidos (p. ej., 00, 01, 10 y 11 serían el código binario para los cuatro nucleótidos diferentes, cada uno apareado con su pareja correspondiente).

B. Todo el genoma humano (3×10^9 pares de nucleótidos) podría almacenarse en dos discos compactos ($3 \times 10^9 \times 2$ bits/$4{,}8 \times 10^9$ bits).

RESPUESTA 5-12

A. Verdadero.

B. Falso. Las partículas centrales de nucleosoma tienen un diámetro de alrededor de 11 nm. En la figura 5-25 se muestra un modelo de la forma en que se condensan generando una fibra de 30 nm de diámetro.

RESPUESTA 5-13

Las definiciones de los términos se encuentran en el Glosario. El DNA se asocia con proteínas especializadas formando la *cromatina*. En el primer nivel de condensación, las *histonas* forman el centro de los *nucleosomas*. En un nucleosoma, el DNA se enrolla dos veces alrededor de este centro proteico. Entre las divisiones nucleares, es decir, en la *interfase*, la *cromatina* de los *cromosomas interfásicos* está en una forma relativamente extendida y se encuentra dispersa en el núcleo, aunque algunas regiones de ésta, la *heterocromatina*, se mantienen muy condensadas y son inactivas desde el punto de vista transcripcional. Durante la división nuclear, es decir, en la mitosis, los cromosomas duplicados se condensan en *cromosomas mitóticos*, que son inactivos desde el punto de vista transcripcional y se distribuyen entre las células hijas.

RESPUESTA 5-14

Las colonias son grupos de células que se originan a partir de una célula fundadora individual y proliferan hacia afuera conforme se dividen una y otra vez. En la colonia inferior de la figura P5-14, el gen *Ade2* se inactiva cuando está ubicado cerca de un telómero, pero al parecer puede activarse en forma espontánea en algunas células, que luego se tornan blancas. Una vez que se ha activado espontáneamente en una célula, el gen *Ade2* continúa siendo activo en las descendientes de esa célula, esto causa que en la colonia se formen grupos de células blancas (los sectores blancos). Estos resultados demuestran que la inactivación de un gen ubicado cerca de un telómero puede ser revertida y que este cambio se transmite a

más generaciones. Es probable que este cambio en la expresión de *Ade2* sea el resultado de una descondensación espontánea de la estructura cromatínica alrededor del gen.

RESPUESTA 5-15
En las microfotografías electrónicas pueden detectarse regiones de la cromatina de dos densidades diferentes; las regiones electrodensas (más oscuras) corresponden a la heterocromatina, mientras que la cromatina menos condensada se ve más clara (electrolúcida). La cromatina en el núcleo A se halla sobre todo en la forma de heterocromatina, condensada e inactiva desde el punto de vista de la transcripción, mientras que la mayor parte de la cromatina en el núcleo B está descondensada y por lo tanto es potencialmente activa para la transcripción. El núcleo A pertenece a un reticulocito, un precursor del glóbulo rojo de la sangre, el cual se dedica sobre todo a producir una sola proteína, la hemoglobina. El núcleo B pertenece a un linfocito, activo en la transcripción de muchos genes diferentes.

RESPUESTA 5-16
La hélice A es dextrógira. La hélice C es levógira. La hélice B tiene una cadena dextrógira y una cadena levógira. Hay varias formas de expresar el sentido de giro de una hélice. Para una hélice orientada verticalmente, como las de la figura P5-14, si arriba las cadenas de adelante apuntan hacia la derecha, la hélice es dextrógira; si arriba apuntan hacia la izquierda, la hélice es levógira. Una vez que Ud. haya aprendido a identificar el sentido de giro de una hélice, le resultará divertido observar que casi el 50% de las hélices de "DNA" en los anuncios son levógiras, al igual que una cantidad sorprendentemente grande de las que están en los libros. Llama la atención que una versión de la hélice B se utilizara en los anuncios de una destacada conferencia internacional que celebraba el trigésimo aniversario del descubrimiento de la hélice de DNA.

RESPUESTA 5-17
La proporción de condensación dentro de un centro nucleosómico es de 4,5 [(146 pb × 0,34 nm/pb)/(11 nm) = 4,5]. Si hay un DNA espaciador adicional de 54pb, entonces la proporción de condensación para el DNA "en collar de perlas" es 2,3 [(200 pb × 0,34 nm/pb)/(11 nm + {54 pb × 0,34 nm/pb}) = 2,3]. Este primer nivel de condensación representa sólo el 0,023% (2,3/10.000) de la condensación total que ocurre en la mitosis.

RESPUESTA 5-18
Parece que todos los mecanismos conocidos que alteran la estructura cromatínica son fácilmente reversibles. Así, en respuesta a señales específicas, cualquiera de las modificaciones covalentes a las cadenas laterales de lisina, arginina y serina en las histonas puede eliminarse. Esta reversibilidad retiene una flexibilidad importante en las vías de desarrollo que sería mucho más difícil de lograr para el mecanismo hipotético con base en el DNA.

Capítulo 6

RESPUESTA 6-1
La distancia entre las horquillas 4 y 5 es de aproximadamente 280 nm, correspondiente a 824 nucleótidos (= 280/0,34). Estas dos horquillas de replicación podrían colisionar en 8 segundos. Las horquillas 7 y 8 se alejan una de otra y por lo tanto no se chocan nunca.
La longitud total del DNA que se muestra en la microfotografía electrónica es de aproximadamente 1,5 μm. correspondiente a 4.400 nucleótidos. Esto es sólo el 0,002% [= (4.400/1,8 × 10^8] × 100%) del DNA total de una célula de una mosca.

RESPUESTA 6-2 Si bien el proceso puede parecer inútil, no se puede corregir durante los estadios iniciales de la síntesis del cebador. Para comenzar un cebador nuevo en una parte de una cadena monocatenaria de DNA, es necesario colocar un nucleótido en el lugar y luego vincular un segundo nucleótido, luego un tercero y así sucesivamente. Aun si estos primeros nucleótidos se aparearan perfectamente con la cadena molde, se unirían con muy poca afinidad, por lo que sería difícil diferenciar las bases correctas de las incorrectas por medio de una primasa hipotética con actividad correctora; por lo tanto, la enzima no podría actuar. La tarea de la primasa es "polimerizar nucleótidos que se unan razonablemente bien a la cadena molde sin preocuparse demasiado por la exactitud". Después, estas secuencias se eliminan y son reemplazadas por la DNA polimerasa, que utiliza DNA recientemente sintetizado (y por lo tanto corregido) como cebador.

RESPUESTA 6-3
Sin DNA polimerasa, no puede ocurrir la replicación. Los cebadores de RNA se formarán en el sitio de origen de la replicación.
La DNA ligasa une los fragmentos de DNA que se producen en la cadena retrasada. En ausencia de ligasa, las cadenas de DNA recientemente replicadas persisten como fragmentos, si bien no se pierden nucleótidos.
Sin la abrazadera deslizante, la DNA polimerasa suele desprenderse de la cadena molde de DNA. En principio, se puede reunir y continuar, aunque el desprendimiento y reunión continuos consumen mucho tiempo y enlentece mucho la replicación de DNA.
En ausencia de las enzimas de escisión de RNA, los fragmentos de RNA persisten unidos covalentemente a los fragmentos recién replicados de DNA. No ocurrirá ninguna unión, dado que la ligasa no unirá el DNA al RNA. Por lo tanto, la cadena retrasada está formada por fragmentos compuestos de DNA y de RNA.
Sin la DNA helicasa, la DNA polimerasa no actuará debido a que no puede separar las cadenas del DNA molde que están por delante de ella. Se sintetizará poco o ningún DNA nuevo.
En ausencia de primasa, los cebadores de RNA no pueden comenzar en la cadena adelantada ni en la cadena retrasada. Por lo tanto, la replicación del DNA no puede comenzar.

RESPUESTA 6-4 El daño del DNA por reacciones de desaminación y de despurinación ocurre en forma espontánea. Este tipo de daño no es resultado de errores en la replicación y por lo tanto es igual de probable en cada cadena. Si las enzimas de reparación del DNA reconocen estos daños sólo en el DNA recientemente sintetizado, la mitad de los defectos quedarían sin corregir. Por lo tanto, la afirmación es incorrecta.

RESPUESTA 6-5 EL virus del sida (el virus de la inmunodeficiencia humana, HIV) es un retrovirus y como tal sintetiza DNA a partir de un cebador de RNA mediante la transcriptasa inversa. Esto causa mutaciones frecuentes en el genoma viral. En realidad, los pacientes con sida suelen portar diferentes variantes genéticas del HIV, distintas del virus original con el que se infectaron. Esto causa grandes problema a la hora de tratar la infección: los fármacos que bloquean las enzimas virales esenciales actúan sólo en forma transitoria debido a que, rápidamente y mediante una mutación, se forman nuevas cepas del virus resistentes a estos fármacos.
Las replicasas de RNA (enzimas que sintetizan RNA utilizando RNA como cebador) tampoco tienen acción correctora. Por ende, los virus que replican el genoma del RNA en forma directa, es decir, sin utilizar DNA como intermediario), también mutan frecuentemente. En estos virus, esto tiende a producir cambios en la cubierta proteica que hace que el virus

mutado sea "nuevo" para nuestro sistema inmunitario; por lo tanto, el virus no es suprimido por los mecanismos inmunitarios que surgieron con la versión previa. Esto es parte de la explicación para la aparición de nuevas cepas de virus influenza (de la gripe) y para el virus del resfrío común.

RESPUESTA 6-6 Si la cadena antigua fue "reparada" utilizando la cadena nueva que contiene un error de replicación como el molde, entonces el error podría convertirse en una mutación permanente en el genoma. La información antigua sería borrada en el proceso. Por lo tanto, si las enzimas de reparación no distinguiesen entre las dos cadenas, sólo existiría el 50% de probabilidad de que cualquier error de replicación sea corregido.

RESPUESTA 6-7 El argumento es muy deficiente. Usted no puede transformar una especie en otra simplemente al introducir el 1% de cambios al azar en el DNA. Es por demás improbable que las 5.000 mutaciones que se acumularían por día en la ausencia de sistema de reparación del DNA se encuentren en las posiciones en donde las secuencias de DNA humanas y hominoideas son diferentes. También es improbable que a esa frecuencia alta de mutación muchos genes esenciales sean inactivados, conduciendo a la muerte celular. Además, nuestro cuerpo está constituido por alrededor de 10^{13} células. Para que usted se convierta en mono, necesita cambiar no sólo una célula sino muchas. Incluso, muchos de estos cambios ocurrirían durante el desarrollo afectando cambios en su plan corporal (haciendo sus brazos más largos que sus piernas, por ejemplo).

RESPUESTA 6-8

A. Falso. Moléculas de DNA polimerasa idénticas catalizan la síntesis de DNA de las cadenas conductora y retrasada de una horquilla de replicación bacteriana. La horquilla es asimétrica debido a que la cadena retrasada es sintetizada en segmentos que luego son unidos todos juntos.

B. Falso. Dado que los cebadores de RNA son eliminados por la nucleasa, los fragmentos de Okazaki son los segmentos de DNA recién sintetizados que eventualmente se unirán para formar la cadena retrasada.

C. Verdadero. La DNA polimerasa tiene una tasa de error de 1 en 10^7 nucleótidos polimerizados. El 99% de sus errores son corregidos por las enzimas reparadoras de apareamientos erróneos del DNA, lo que eleva la tasa de error a 1 en 10^9.

D. Verdadero. Las mutaciones se acumularían rápidamente, destruyendo los genes.

E. Verdadero. Si un nucleótido dañado también se produce naturalmente en el DNA, la enzima reparadora no tendría la manera de identificar el daño. Por lo tanto, solo tendría el 50% de probabilidad de fijar la cadena correcta.

F. Verdadero. En general, se necesita acumular múltiples mutaciones de tipos específicos antes de que una célula se convierta en cancerosa. Una mutación en un gen que codifica una enzima reparadora del DNA puede tomar a la célula más propensa a la acumulación de mutaciones posteriores, acelerando así el inicio del cáncer.

RESPUESTA 6-9 Con un sólo origen de replicación que promueve dos DNA polimerasas en direcciones opuestas sobre el DNA, cada una moviéndose a 100 nucleótidos por segundo, la cantidad de nucleótidos replicados en 24 horas será $1{,}73 \times 10^7$ (= $2 \times 100 \times 24 \times 60 \times 60$). Para replicar todos los 6×10^9 nucleótidos del DNA en la célula en ese momento, entonces, se necesitará al menos 348 (=$6 \times 10^9 / 1{,}73 \times 10^7$) orígenes de replicación. Los 10.000 orígenes estimados en el genoma humano son por lo tanto más que suficientes para satisfacer los requerimientos mínimos.

RESPUESTA 6-10

A. El compuesto A es didesoxicitosina trifosfato (ddCTP), idéntico al dCTP excepto que carece del grupo 3'-hidroxilo en el anillo de azúcar. El ddCTP es reconocido por la DNA polimerasa como dCTP y es incorporado al DNA; debido a que carece del grupo 3'-hidroxilo crucial, sin embargo, su adición a la cadena de DNA en crecimiento crea un extremo muerto al que no se pueden añadir más nucleótido. Por eso, si el ddCTP se añade en gran exceso, las cadenas serán sintetizadas hasta que se encuentre la primera G (el nucleótido complementario a C) sobre la cadena molde. El ddCTP será entonces incorporado en lugar de la C, y se terminará la extensión de esta cadena.

B. Si se añade ddCTP al 10% de la concentración de dCTP disponible, existe 1 posibilidad en 10 de que sea incorporado cuando sea que se encuentre una G sobre la cadena molde. Por lo tanto, una población de fragmentos de DNA será sintetizada, y a partir de sus longitudes se puede deducir dónde se localizan los residuos de G sobre la cadena molde. Esta estrategia forma la base de métodos que se utilizan para determinar la secuencia de nucleótidos en un segmento de DNA (analizado en el capítulo 10).

El mismo fenómeno químico es explotado por el fármaco, 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT), que se utiliza frecuentemente en los pacientes infectados con HIV para tratar el sida. El AZT es convertido en las células en la forma de trifosfato y es incorporado al DNA viral en crecimiento. Debido a que el fármaco carece de un grupo 3'–hidroxilo, bloquea la síntesis y la replicación del virus. El AZT inhibe la replicación viral preferencialmente debido a que la transcriptasa inversa tiene una mayor afinidad por el fármaco que por las timidinas trifosfato; las DNA polimerasas celulares humanas no exhiben esta preferencia.

C. El compuesto B es didesoxicitosina monofosfato (ddCMP), que carece del grupo 5'-trifosfato como del grupo 3'-hidroxilo del azúcar. Por lo tanto, no puede proporcionar energía para impulsar la reacción de polimerización de los nucleótidos dentro del DNA y como consecuencia, no será incorporado dentro de la replicación del DNA. La adición de este compuesto no afectará la replicación.

RESPUESTA 6- 11
El uso de la energía de la hidrólisis del grupo 3' trifosfato en la polimerización haría crecer la cadena en forma opuesta, es decir, en la dirección 3' a 5'. La corrección de prueba, en principio podría ocurrir por la actividad de la 5' a 3' nucleasa. Este escenario sería el mismo que el que se muestra en la parte izquierda de la Figura 6-15, excepto que los grupos trifosfato estarían en la parte derecha del DNA y del nucleótido trifosfato entrante.

RESPUESTA 6-12 Véase figura R6-12

RESPUESTA 6-13 Ambas cadenas del cromosoma bacteriano contienen 6×10^6 nucleótidos. Durante la polimerización de los nucleósidos trifosfatos en el DNA, se rompen dos enlaces fosfoanhidridos por cada nucleótido añadido: el nucleósido trifosfato es hidrolizado y produce el nucleósido monofosfato añadido a la cadena de DNA en crecimiento, y el pirofosfato liberado es hidrolizado a fosfato. Por lo tanto, durante cada ciclo de replicación de DNA bacteriano se hidrolizan $1{,}2 \times 10^7$ nucleótidos enlaces de alta energía. Esto requiere 4×10^5 (=$1{,}2 \times 10^7/30$) moléculas de glucosa, que pesan $1{,}2 \times 10^{-16}$ g (= 4×10^5 moléculas $\times$ 180g/mol/ 6×10^{23} moléculas/mol), que es 0,01% del peso total de la célula.

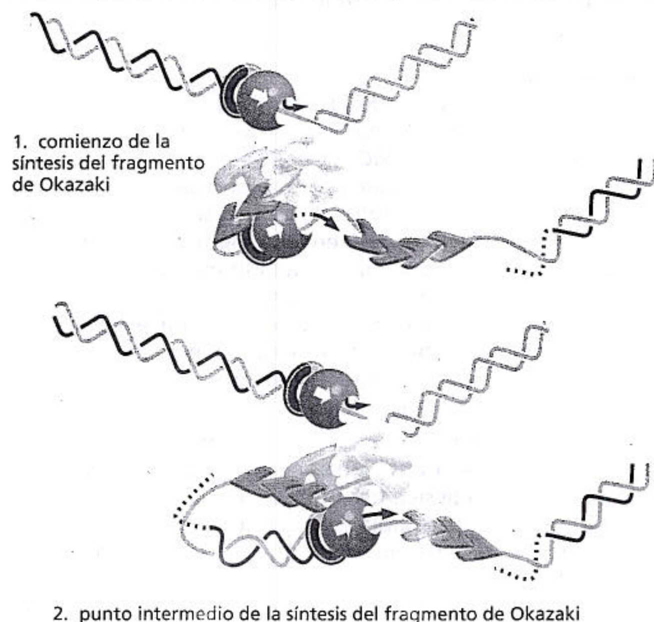


Figura R6-12

RESPUESTA 6-14 La afirmación es correcta. Si el DNA de las células somáticas no es lo suficientemente estable (es decir, si se acumulan mutaciones demasiado rápido), el organismo muere (p. ej., de cáncer) y debido a que esto, a veces, puede suceder antes de que el organismo se reproduzca, las especies se morirían. Si el DNA en las células reproductivas no es lo suficientemente estable, se acumularán muchas mutaciones que serán pasadas a las generaciones futuras, y como consecuencia, no se mantendrían las especies.

RESPUESTA 6-15 Como se muestra en la figura R6-15, la timina y el uracilo carecen de grupos amino y, por lo tanto, no pueden ser desaminadas. La desaminación de la adenina y la guanina produce anillos de purina que no se encuentran en los ácidos nucleicos convencionales. En contraste, la desaminación de la citosina produce uracilo. Por consiguiente, si el uracilo fuera una base natural en el DNA, las enzimas reparadoras no distinguirían si un uracilo es la base adecuada o si surgió por desaminación espontánea de la citosina. Este dilema no se encuentra debido a que se utiliza la timina en el DNA. Por lo tanto, si una base de uracilo se encuentra en el DNA, puede ser reconocida automáticamente como una base dañada y entonces ser eliminada y reemplazada por la citosina.

RESPUESTA 6-16

A. Debido a que la DNA polimerasa requiere un 3'-OH para sintetizar DNA, sin los telómeros y las telomerasas, los extremos de los cromosomas se acortarían durante cada ciclo de replicación (Fig. R6-16). Para los cromosomas bacterianos, que no tienen extremos, no se presenta este problema; siempre existirá un grupo 3'-OH disponible para cebar la DNA polimerasa que reemplaza al cebador de RNA con DNA. Los telómeros y la telomerasa evitan el acortamiento de los cromosomas porque los telómeros extienden el extremo 3' de una cadena de DNA (véase Fig. 6-18). Esta extensión del molde de la cadena retrasada proporciona "espacio" para comenzar los fragmentos de Okazaki finales.

B. Como se muestra en la figura R6-16, los telómeros y la telomerasa aun son necesarios incluso si el último fragmento de la cadena retrasada fue iniciado por la primasa en el extremo 3' final del DNA cromosómico, en tanto el cebador de RNA deber ser eliminado.

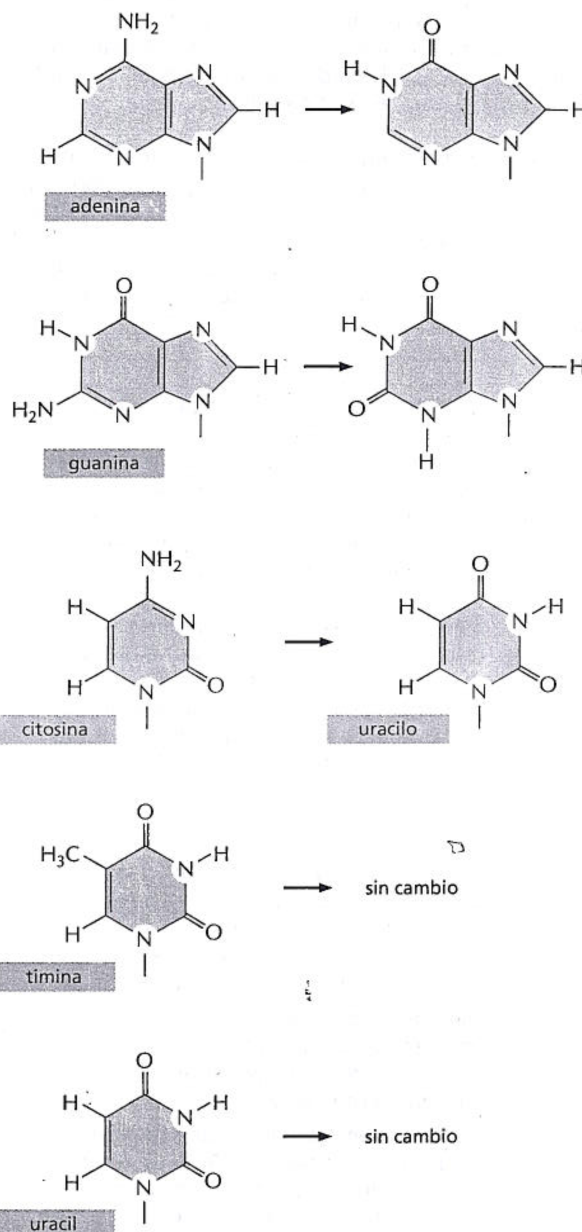


Figura R6-15

RESPUESTA 6-17 Los virus no pueden existir como organismos de vida libre: no tienen metabolismo, no se comunican con otros virus y no pueden reproducirse a sí mismos. Por lo tanto, no tienen ninguno de los atributos que se asocian con la vida. En su lugar, pueden incluso ser cristalizados. Solo dentro de las células pueden redirigir las actividades biosintéticas celulares normales para la tarea de sintetizar más copias de sí mismos. Por consiguiente, el único aspecto de "vida" que los virus despliegan es su capacidad de dirigir su propia reproducción una vez dentro de una célula.

RESPUESTA 6-18 Cada vez que otra copia de un transposón se inserta dentro de un cromosoma, el cambio puede ser neutral, benéfico o perjudicial para el organismo. Debido a que los individuos que acumulan inserciones perjudiciales podrían ser seleccionados en contra, la proliferación de los transposones se encuentra controlada por la selección natural. Si un transposón prolifera de manera descontrolada, es improbable que un organismo hospedador viable lo mantenga. Por esta razón, la mayoría de los transposones sólo raramente se trasponen.

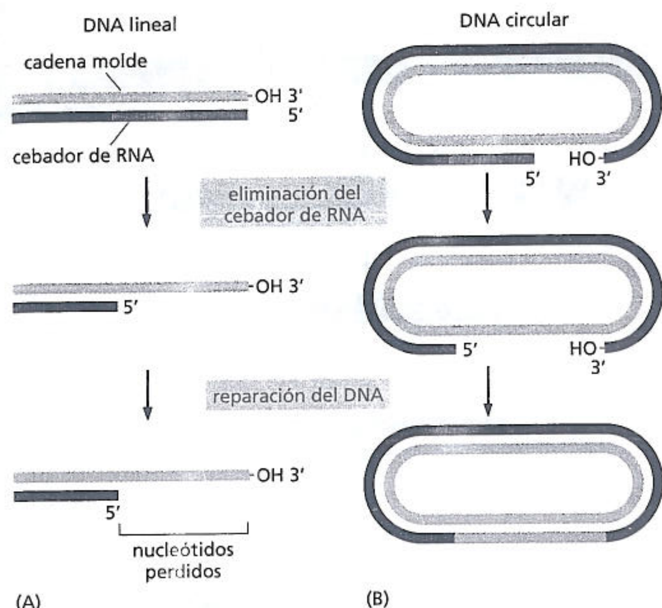


Figura R6-16

Muchos transposones, por ejemplo, sintetizan solo estallidos infrecuentes de muy pequeñas cantidades de la transposasa que es necesaria para su movimiento.

RESPUESTA 6-19

A. Si el único origen de replicación estuviera localizado exactamente en el centro del cromosoma, tomaría más de 8 días replicar el DNA [= 75 × 10^6 nucleótidos/(100 nucleótidos/seg)]. La tasa de replicación limitaría gravemente la tasa de división celular. Si el origen estuviera localizado en un extremo, el tiempo para replicar al cromosoma sería aproximadamente el doble.

B. Un extremo de cromosoma que no esta "encapuchado" con un telómero perdería nucleótidos durante cada ciclo de replicación del DNA y se acortaría de manera gradual. Eventualmente, se perderían genes esenciales, conduciendo a la muerte celular.

C. Sin centrómeros, que los adhieran al huso mitótico, los dos cromosomas nuevos que resultan de la replicación no pueden ser particionados de manera precisa entre las dos células hijas. Por lo tanto, muchas células hijas morirían, debido a que no recibirían el conjunto completo de cromosomas.

Capítulo 7

RESPUESTA 7-1 Quizá la mejor respuesta fue la del propio Francis Crick, quien acuñó el término a mediados de la década de los cincuenta: "Creo que llamé dogma central a esta idea por dos razones. Ya había usado la obvia palabra hipótesis en la hipótesis de secuencia, que postulaba que la información genética estaba codificada en la secuencia de las bases del DNA, y además quería sugerir que esta nueva presunción era más central y más poderosa... Como resultó, la utilización de la palabra dogma causó más problema del que se justificaba. Muchos años más adelante, Jacques Monod me comentó que yo no parecía conocer el uso correcto de la palabra dogma, que es una creencia de la que no se puede dudar. De hecho, reconocía esto de una manera vaga, pero como pensaba que todas las creencias religiosas no tenían una base seria, empleé la palabra del modo que yo pensaba acerca de ella, no como lo hace todo el mundo, y simplemente la apliqué a una gran hipótesis que, aunque era plausible, tenía escaso aval experimental en ese momento". (Francis Crick, *What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery.* Basic Books, 1988).

RESPUESTA 7-2 En realidad, las RNA polimerasas no se están moviendo en absoluto, porque han sido fijadas y revestidas con metal a fin de preparar la muestra para visualizarla con el microscopio electrónico. Sin embargo, antes de ser fijadas, se movían de izquierda a derecha, como indica el alargamiento gradual de los transcriptos de RNA.
Los transcriptos de RNA son más cortos porque comienzan a plegarse (es decir, a adquirir una estructura tridimensional) a medida que son sintetizados (véase, por ejemplo, Fig. 7-5), mientras que el DNA es una doble hélice extendida.

RESPUESTA 7-3 A primera vista, las actividades catalíticas de una RNA polimerasa que participa en la transcripción podría reemplazar de manera adecuada a la primasa. Sin embargo, al reflexionar más, hay algunos problemas importantes. (1) La RNA polimerasa que participa en la fabricación de cebadores debería iniciarse cada pocos cientos de bases, mientras que los promotores del DNA están espaciados con mucha menos frecuencia. Por lo tanto, la iniciación debería tener lugar en forma independiente del promotor o tendría que haber muchos más promotores en el DNA, lo que en ambos casos sería problemático para el control de la transcripción. (2) De modo similar, los cebadores de RNA que participan en la replicación son mucho más cortos que los mRNA. Por lo tanto, la RNA polimerasa necesitaría terminar con mucho más frecuencia que durante la transcripción. La terminación debería ser espontánea, es decir, sin necesidad de una secuencia terminadora del DNA, o debería haber muchos más terminadores. También en este caso, estos dos escenarios serían problemáticos para el control de la transcripción.
Aunque podría ser posible superar este problema si proteínas de control especiales se unieran a la RNA polimerasa durante la replicación, el problema ha sido resuelto durante la evolución mediante la utilización de enzimas distintas con propiedades especializadas. Sin embargo, algunos virus DNA pequeños sí emplean la RNA polimerasa del hospedador fabricando cebadores que participan en su replicación.

RESPUESTA 7-4 Este experimento demuestra que el ribosoma no controla el aminoácido que está unido a un tRNA. Una vez que un aminoácido se ha acoplado a un tRNA, el ribosoma incorporará "ciegamente" a ese aminoácido a la posición, de acuerdo con la compatibilidad entre codón y anticodón. Por lo tanto, se puede concluir en que una parte significativa de la lectura correcta del código genético, es decir, la correspondencia de un codón con el aminoácido correcto depende de las enzimas sintetasas que hacen coincidir correctamente los tRNA y los aminoácidos.

RESPUESTA 7-5 El mRNA tendrá una polaridad 5'-3' opuesta a la de la cadena de DNA que actúa de molde. Así, la secuencia de mRNA leerá 5'-GAAAAAAGCCGUUAA-3'. El aminoácido N-terminal codificado por GAA es ácido glutámico. UAA especifica un codón de terminación, de manera que el aminoácido C-terminal es codificado por CGU y es una arginina. Observe que la convención para describir la secuencia de un gen es dar la secuencia de la cadena de DNA que no se usa de molde para la síntesis de RNA; esta secuencia es la misma que la del transcripto de RNA, con T en lugar de U.

RESPUESTA 7-6 La primera afirmación es fácticamente correcta: se considera que el RNA ha sido el primer catalizador con capacidad de autorreplicación, y en las células modernas, ya no se autorreplica. Sin embargo, se puede debatir si esto

representa una 'pérdida'. En la actualidad, el RNA cumple muchas funciones en la célula: como mensajero, como adaptador para la síntesis proteica, como cebador para la replicación del DNA y como catalizador para algunas de las reacciones más fundamentales.

RESPUESTA 7-7

A. Falso. Los ribosomas pueden sintetizar cualquier proteína especificada por el mRNA particular que están traduciendo. Después de la traducción, los ribosomas son liberados del mRNA y, después, pueden comenzar a traducir un mRNA diferente.

B. Falso. Los mRNA son traducidos como polímeros lineales; no hay ningún requerimiento de que tengan ninguna estructura plegada particular. De hecho, estas estructuras formadas por mRNA pueden inhibir la traducción, porque el ribosoma tiene que desplegar el mRNA para leer el mensaje que contiene.

C. Falso. Las subunidades ribosómicas intercambian partes después de cada ronda de traducción. Después que un ribosoma es liberado de un mRNA, sus dos subunidades se disocian e ingresan en una mezcla de subunidades libres pequeñas y grandes a partir de la cual se ensamblan nuevos ribosomas alrededor de un nuevo mRNA.

D. Falso. Los ribosomas son orgánulos citoplasmáticos, pero no están encerrados individualmente en una membrana.

E. Falso. La posición del promotor determina la dirección en la que procede la transcripción y qué cadena de DNA se utiliza como molde. La transcripción en la dirección contraria produciría un mRNA con una secuencia por completo diferente (y, probablemente, sin significado).

F. Falso. El RNA contiene uracilo pero no timina.

G. Falso. El nivel de una proteína depende de su velocidad de síntesis y degradación, pero no de su actividad catalítica.

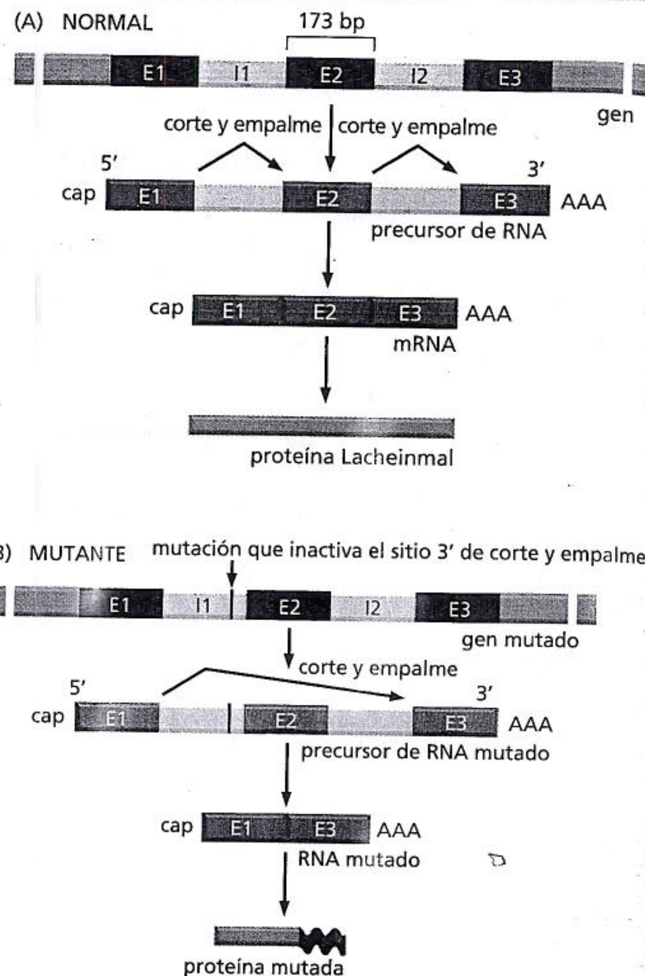


Figura R7-8

RESPUESTA 7-8 Como la deleción del mRNA de Lacheinmal es interna, es probable que ésta surja de un defecto de corte y empalme. La interpretación más simple es que el gen *Lacheinmal* contiene un exón de 173 nucleótidos de largo (rotulado "E2" en la figura R7-8), y que este exón se pierde durante el procesamiento del mRNA precursor mutante. Esto podría ocurrir, por ejemplo, si la mutación cambiara el sitio de corte y empalme 3' del intrón precedente ("I1"), de manera que ya no fuera reconocido por la maquinaria de corte y empalme (un cambio de la secuencia CAG mostrado en la figura 7-19 podría hacer esto). La snRNP buscaría el siguiente sitio de corte y empalme 3' disponible, que se halla en el extremo 3' del intrón siguiente ("I2"), y por lo tanto, la reacción de corte y empalme eliminaría E2 junto con I1 e I2, lo que determinaría un mRNA acortado. Después, el mRNA sería traducido a una proteína defectuosa, con la consiguiente deficiencia de Lacheinmal.

Como 173 nucleótidos no ascienden a una cantidad integral de codones, la falta de este exón del mRNA desplazará el marco de lectura en la unión de corte y empalme. Por lo tanto, la proteína de Lacheinmal sólo se fabricaría correctamente hasta el exón E1. Cuando el ribosoma comienza a traducir secuencias en el exón E3, será un marco de lectura diferente y, por lo tanto, producirá una secuencia proteica no relacionada con la secuencia de Lacheinmal normalmente codificada por el exón E3. Lo más probable es que el ribosoma encuentre pronto un codón de terminación que, en las secuencias de RNA que no codifican proteínas, es esperable que aparezca, en promedio, una vez cada 21 codones (hay 3 codones de terminación en los 64 codones del código genético).

RESPUESTA 7-9 Tanto la secuencia 1 como la secuencia 4 codifican el péptido Arg-Gly-Asp. Como el código genético es redundante, diferentes secuencias nucleotídicas puede codificar la misma secuencia de aminoácidos.

RESPUESTA 7-10

A. Incorrecto. Los enlaces no son covalentes y su formación no requiere aporte de energía.

B. Correcto. El aminoacil-tRNA ingresa en el ribosoma en el sitio A.

C. Correcto. A medida que el ribosoma se mueve a lo largo del mRNA, los tRNA que han donado su aminoácido a la cadena polipeptídica en crecimiento son eyectados del ribosoma y del mRNA. La eyección tiene lugar dos ciclos después de que el tRNA ingresa por primera vez en el ribosoma (véase Fig. 7-33).

RESPUESTA 7-11 *Replicación.* Definición del diccionario: creación de una copia exacta; definición de la biología molecular: acción de duplicar el DNA. *Transcripción.* Definición del diccionario: acción de escribir una copia, en especial de una forma física a otra; definición de la biología molecular: acción de copiar la información que almacena el DNA en RNA. *Traducción.* Definición del diccionario: acción de colocar palabras en un idioma diferente; definición de la biología molecular: acción de polimerizar aminoácidos en una secuencia lineal definida utilizando la información aportada por la secuencia lineal de nucleótidos del mRNA. (Observe que, en inglés, "translation" también se usa en un sentido bastante diferente,

tanto en lenguaje habitual como en contextos científicos, con el significado de movimiento de un lugar u otro).

RESPUESTA 7-12 Un código de dos nucleótidos podría especificar 16 aminoácidos diferentes (= 4^2), y un código triplete, en el que la posición de los nucleótidos no es importante, podría especificar 20 aminoácidos diferentes (= 4 posibilidades de 3 de las mismas bases + 12 posibilidades de 2 bases iguales y 1 diferente + 4 posibilidades de 3 bases diferentes). En ambos casos, habría que reducir, por lo menos en 1, estos números máximos de aminoácidos, debido a la necesidad de especificar codones de terminación de la traducción. Es relativamente fácil prever cómo se traduciría un código doblete por un mecanismo similar al usado en nuestro mundo suministrando tRNA con sólo dos bases relevantes en el bucle anticodón. Es más difícil prever cómo se podría traducir la composición nucleotídica de una extensión de tres nucleótidos sin importar su orden, porque ya no se podría usar el apareamiento de bases: p. ej., AUG no apareará sus bases con el mismo anticodón que UGA.

RESPUESTA 7-13 Es probable que, en las primeras células, la correspondencia entre codones y aminoácidos fuera menos exacta que en las células actuales. La característica del código genético descrita en la pregunta puede haber permitido que las primeras células toleraran esta inexactitud al posibilitar relaciones poco claras entre grupos de codones aproximadamente similares y grupos de aminoácidos aproximadamente similares. Se puede imaginar con facilidad cómo la correspondencia entre codones y aminoácidos se pudo haber tornado más exacta, paso por paso, a medida que la maquinaria de traducción evolucionó a la observada en las células modernas.

RESPUESTA 7-14 El codón para Trp es 5'-UGG-3'. Así, un Trp-tRNA normal contiene la secuencia 5'-CCA-3' como su anticodón. Si este tRNA presenta una mutación que hace que su anticodón se modifique a UCA, éste reconocerá al codón UGA y determinará la incorporación de un residuo triptófano en lugar de causar la terminación de la traducción. Sin embargo, muchas otras secuencias codificadoras de proteínas contienen codones UGA en sus sitios de terminación naturales, que también serían afectados por el tRNA mutante. Según la competencia entre el tRNA alterado y los factores de liberación de la traducción normales (Fig. 7-37), algunas de estas proteínas tendrían aminoácidos adicionales en su extremo C-terminal. La longitud adicional dependería del número de codones previos a que los ribosomas encuentren un codón de terminación no UGA en el mRNA, en el marco de lectura en el que es traducida la proteína.

RESPUESTA 7-15 Una manera eficaz de impulsar hasta el final una reacción es eliminar uno de los productos, de manera que no se pueda producir la reacción inversa. El ATP contiene dos enlaces de alta energía que unen los tres grupos fosfato. En la reacción mostrada, se libera PP_i, que consiste en dos grupos fosfato unidos por uno de estos enlaces de alta energía. Así, PP_i puede ser hidrolizado con una considerable ganancia de energía libre y, por ende, ser eliminado de modo eficiente. Esto sucede con rapidez en las células, y las reacciones que producen y después hidrolizan PP_i son, por lo tanto, virtualmente irreversibles (véase Cap. 3).

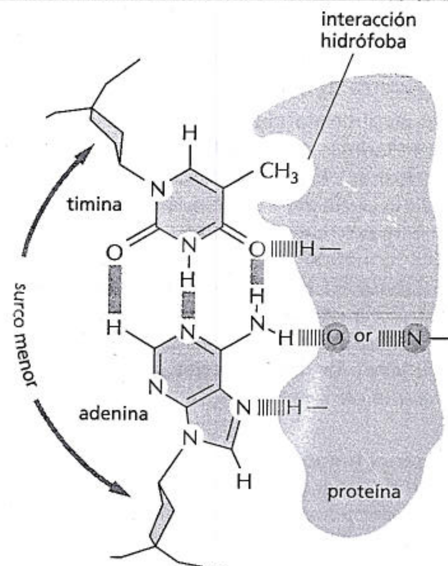
RESPUESTA 7-16
A. Una molécula de titina está formada por 25.000 aminoácidos. Por lo tanto, demanda alrededor de 3,5 horas sintetizar una sola molécula de titina en las células musculares.
B. Dado su gran tamaño, la probabilidad de sintetizar una molécula de titina sin ningún error es sólo de 0,08 [= $(1 - 10^{-4})^{25.000}$]; es decir, sólo 8 de 100 moléculas de titina sintetizadas no tienen errores. En cambio, más del 97% de las proteínas recién sintetizadas de tamaño promedio son fabricadas correctamente.
C. La tasa de error limita el tamaño de las proteínas que pueden ser sintetizadas con exactitud. De modo similar, si una proteína ribosómica eucarionte se sintetizara como una sola molécula, sería esperable que una gran proporción (87%) de esta proteína ribosómica gigante, hipotética, contuviese por lo menos un error. Es más ventajoso sintetizar proteínas ribosómicas en forma individual, porque de esta manera sólo una pequeña proporción de cada tipo de proteína será defectuosa, y estas escasas moléculas malas se pueden eliminar individualmente por proteólisis para garantizar que no haya defectos en el ribosoma en su totalidad.
D. Para calcular el tiempo que toma transcribir un mRNA de titina, debería conocer el tamaño de su gen, que es probable que contenga muchos intrones. La transcripción de los exones solos requiere alrededor de 42 minutos. Como los intrones pueden ser bastante grandes, es probable que el tiempo requerido para transcribir todo el gen sea considerablemente mayor.

RESPUESTA 7-17 Las mutaciones del tipo descrito en (B) y (D) suelen ser las más dañinas. En ambos casos, se cambiaría el marco de lectura, y como este cambio del marco de lectura se produce cerca del comienzo o en el medio de la secuencia codificadora, gran parte de la proteína contendrá una secuencia terminadora o truncada de aminoácidos. Por el contrario, un cambio del marco de lectura que se produce al final de la secuencia codificadora, como se describió en el caso (A), determinará una proteína en gran medida correcta que puede ser funcional. La deleción de tres nucleótidos consecutivos, caso (C), induce la deleción de un aminoácido, pero no modifica el marco de lectura. El aminoácido eliminado puede ser importante o no; en muchos casos, este tipo de mutaciones son silentes, es decir, no tienen consecuencias o éstas sólo son menores para el organismo. La sustitución de un aminoácido por otro, como en (E), suele ser por completo inocua. En algunos casos, no modificará la secuencia de aminoácidos de la proteína; en otros, cambiará un solo aminoácido; en el peor de los casos, puede crear un nuevo codón de terminación, lo que da origen a una proteína truncada.

Capítulo 8

RESPUESTA 8-1
A. La transcripción del operón triptófano no estaría más regulada por la presencia o ausencia de triptófano; las enzimas estarían activadas permanentemente en los escenarios (1) y (2) e inactivadas en el escenario (3).
B. En los escenarios (1) y (2), las moléculas represoras de triptófano normal restaurarían completamente la regulación de las enzimas de la biosíntesis de triptófano. En contraste, la expresión de la proteína normal no afectaría el escenario 3, debido a que el operador de triptófano permanecería siempre ocupado por la proteína mutante.

RESPUESTA 8-2
Los contactos pueden establecerse entre la proteína y los márgenes de los pares de bases expuestos en el surco mayor del DNA (Fig. R8-2). Los enlaces responsables de los contactos de secuencias específicas son enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas con el grupo metilo sobre la timina. Nótese que la disposición de los donantes de enlace de hidrógeno y



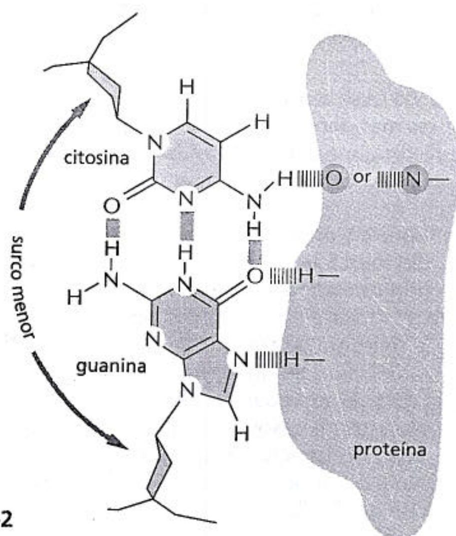


Figura R8-2

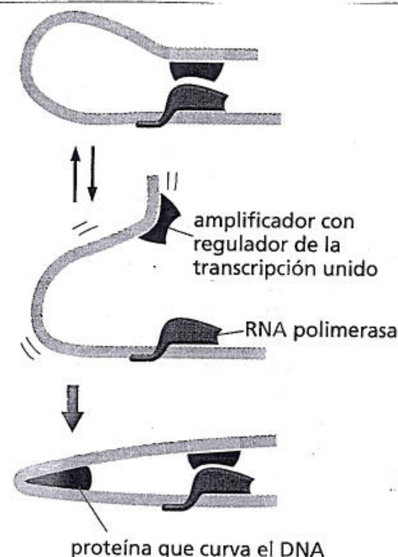


Figura R8-3

de los aceptores de enlace de hidrógeno del par T–A es diferente de la del par C–G. Del mismo modo, la disposición de los enlaces de hidrógeno donantes y de los enlaces de hidrógeno aceptores de los pares A–T y G–C serían diferentes entre sí y de los dos pares que se muestran en la figura. Además de los contactos ilustrados, las interacciones iónicas entre las cadenas laterales de los aminoácidos con carga positiva de la proteína y los grupos fosfato con carga negativa en el esqueleto de DNA suelen estabilizar las interacciones DNA–proteína.

RESPUESTA 8-3

Las proteínas que pliegan el DNA contribuyen a acercar regiones distantes del DNA que en condiciones normales se contactarían de una forma ineficiente (Fig. R8-3). Estas proteínas se encuentran en procariontes y eucariontes y están involucradas en muchos ejemplos de regulación de la transcripción.

RESPUESTA 8-4

A. La luz UV desencadena el cambio del estado de profago al estado lítico: cuando la proteína cI se destruye, se sintetiza Cro y se desactiva la producción de cI. El virus comienza a producir cubiertas proteicas y se forman partículas virales nuevas.

B. Cuando se apaga la luz UV, el virus se mantiene en estado lítico. Por lo tanto, cI y Cro producen un cambio regulatorio génico que "memoriza" su posición previa.

C. Este cambio tiene sentido en el ciclo de vida viral: la luz UV tiende a dañar al DNA bacteriano (véase Fig. 6-24), y así transforma a la bacteria en un hospedador inestable para el virus. Por esta razón un profago cambiará al estado lítico y dejará a la célula irradiada en la búsqueda de un nuevo hospedador para infectar.

RESPUESTA 8-5

Falso. Las zanahorias pueden crecer a partir de una sola célula de zanahoria y los renacuajos pueden formarse mediante la inyección de núcleos diferenciados de rana en óvulos de rana. Pero no pueden obtenerse zanahorias a partir de óvulos de rana.

RESPUESTA 8-6

A. Verdadero. Los mRNA procariontes suelen ser transcriptos de operones enteros. Los ribosomas pueden iniciar la traducción en sitios de inicio AUG internos de estos mRNA "policistrónicos" (véanse Figs 7-36 y 8-6).

B. Verdadero. El surco mayor del DNA bicatenario es lo suficientemente ancho como para permitirle a la superficie proteica, tal como una cara de una α hélice, acceder a los pares de bases.

C. Verdadero. Es ventajoso ejercer control en el punto más temprano posible en una vía. Esto conserva la energía metabólica debido a que no se sintetizan productos innecesarios en primer lugar.

D. Falso. Los átomos de cinc en los dominios dedos de cinc son necesarios para el plegamiento correcto del dominio proteico; son internos en estos dominios y no contactan al DNA.

RESPUESTA 8-7

A partir del conocimiento de los amplificadores, se esperaría que su función fuese relativamente independiente de su distancia respecto del promotor y posiblemente se debilitara a medida que la distancia aumenta. La característica sorprendente de este dato –que ha sido adaptado de un experimento real– es la periodicidad: el amplificador tiene máxima actividad a ciertas distancias del promotor (50, 60 o 70 nucleótidos), pero es casi inactivo a distancias intermedias (55 a 65 nucleótidos). La periodicidad de 10 sugiere que el misterio puede explicarse al considerar la estructura de la doble hélice de DNA, que tiene casi 10 pares de bases por vuelta. Por lo tanto, colocar un amplificador sobre el lado del DNA opuesto al del

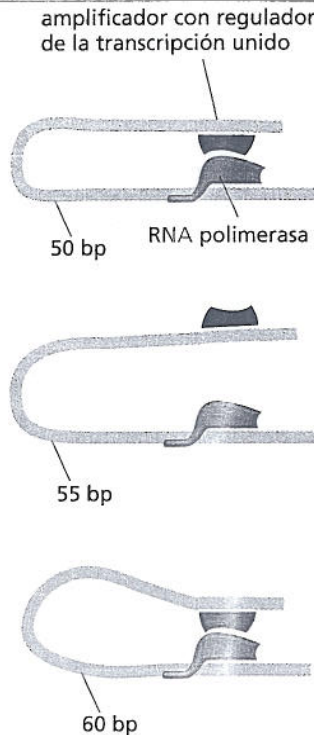


Figura R8-7

promotor (Fig. R8-7) dificultaría más al activador que se une a él para interactuar con las proteínas unidas al promotor. A mayor distancia, existe más DNA para amortiguar el enrollamiento, y el efecto disminuye.

RESPUESTA 8-8

Dos ventajas de las proteínas diméricas de unión al DNA son: 1) que la formación del dímero incrementa en gran medida la especificidad y la fuerza de una interacción proteína-DNA al duplicar la cantidad de contactos proteína-DNA, y 2) subunidades diferentes pueden combinarse de formas distintas aumentando el numero de especificidades de unión al DNA disponibles para la célula. Tres de los dominios proteicos que más participan en la unión al DNA son las cremalleras de leucina, los homeodominios y los dedos de cinc. Cada uno proporciona un pliegue particularmente estable en la cadena polipeptídica que posiciona una α-hélice en forma apropiada sobre la superficie de la proteína de modo que ésta puede insertarse en el surco mayor de la hélice del DNA y contactar los laterales de los pares de bases (véase Fig. 8-5).

RESPUESTA 8-9

La afinidad del represor γ dimérico por su sitio de unión es la suma de todas las interacciones hechas por cada uno de los dominios de unión al DNA. Un dominio de unión al DNA individual hará sólo la mitad de los contactos y proporcionará sólo la mitad de la energía de unión en comparación con el dímero. Por lo tanto, aunque la concentración de los dominios de unión no cambia, no están más acoplados, y sus afinidades individuales por el DNA son lo suficientemente débiles como para que no puedan permanecer unidos. En consecuencia, se activan los genes del crecimiento lítico.

RESPUESTA 8-10

La función de los genes *Arg* es sintetizar arginina. Cuando la arginina es abundante, se debe desactivar la expresión de los genes biosintéticos. Si ArgR actúa como un gen represor, que es lo que hace en realidad, entonces la unión de la arginina debe incrementar su afinidad por los sitios reguladores, permitiendo unirse y desactivar la expresión génica. Si, en cambio, ArgR actúa como un gen activador, la unión de la arginina reducirá su afinidad por sus sitios de DNA reguladores, evitará su unión y desactivará la expresión génica.

RESPUESTA 8-11

Los resultados de este experimento favorecen el modelo de formación del asa de DNA, que no sería afectado por el puente de proteína (tanto como lo permita el plegamiento del DNA que ésta produce). Sin embargo, el modelo exploratorio o de sitio de entrada tal vez se altere por la naturaleza de la unión entre el potenciador y el promotor. Si las proteínas dieran paso al potenciador y exploraran el promotor, tendrían que atravesar el puente proteico. Si esas proteínas están equipadas para explorar el DNA, probablemente tendrían dificultades para hacerlo a través de una proteína.

RESPUESTA 8-12

El resultado más definitivo es el que muestra que una sola célula diferenciada obtenida a partir de un tejido especializado puede volver a generar un organismo entero. Esto prueba que la célula debe contener toda la información requerida para producir un organismo entero, incluidos a todos sus tipos celulares especializados. Los experimentos de este tipo se resumen en la figura 8-2.

RESPUESTA 8-13

Usted podrá crear 16 tipos celulares diferentes con 4 reguladores de la transcripción distintos (los 8 tipos celulares que se muestran en la figura 8-19, más otros 8 creados mediante el agregado de un regulador génico adicional). MyoD por sí mismo es suficiente para inducir la expresión de genes específicos de músculo solo en ciertos tipos celulares, como algunos fibroblastos. La acción de MyoD es, por lo tanto, compatible con el modelo que se ilustra en la figura 8-19: si las células musculares fueran especificadas, por ejemplo, mediante la combinación de los reguladores de la transcripción 1, 3 y MyoD, el agregado de MyoD debería convertir solamente dos de los tipos celulares de la figura 8-19 (células F y H) en músculo.

RESPUESTA 8-14

La inducción de un activador génico que estimula su propia síntesis puede crear un circuito de retroalimentación positiva que puede producir la memoria celular. La síntesis autoestimulada continua del activador A, en principio, puede persistir durante muchas generaciones celulares, servir como un recordatorio constante de un acontecimiento en el pasado. Por el contrario, la inducción de un represor génico que inhibe su propia síntesis crea un circuito de retroalimentación negativa que garantiza una respuesta transitoria a un estímulo transitorio. Como el represor R desactiva su propia síntesis, la célula retornará con rapidez al estado que existía antes de la señal.

RESPUESTA 8-15

En la células se producen continuamente muchos reguladores de la transcripción; es decir, su expresión es constitutiva y la actividad de la proteína se controla por las señales desde el interior o el exterior celular (p. ej., la disponibilidad de nutrientes, como para el represor Trp, o de hormonas, como para el receptor de glucocorticoides), lo cual ajusta el programa de transcripción a las necesidades fisiológicas de la célula. Además, un regulador de la transcripción suele controlar la expresión de muchos genes diferentes. Los reguladores de la transcripción se utilizan en varias combinaciones y, cada uno puede afectar la actividad del otro; de esta forma aumenta de manera adicional las posibilidades para la regulación con un grupo limitado de proteínas. Sin embargo, la célula dedica gran parte de su genoma al control de la transcripción: se estima que un 10% de todos los genes en las células eucariontes codifican reguladores de la transcripción.

Capítulo 9

RESPUESTA 9-1 La respuesta reside en la necesidad de la célula de mantener un equilibrio entre estabilidad y cambio. Si la tasa de mutación fuese demasiado elevada, la especie finalmente desaparecerá debido a que todos sus individuos acumularán demasiadas mutaciones en sus genes esenciales para la supervivencia. Para que una especie sea exitosa, en términos evolutivos, es importante para los miembros individuales tener una buena memoria genética, es decir, fidelidad en la replicación del DNA. Al mismo tiempo, se necesitan cambios ocasionales si la especie se adapta a condiciones cambiantes. Si el cambio conduce a una mejora, esta persistirá por selección; si muestra ser perniciosa, morirá el organismo individual que fue el sujeto desafortunado del experimento de la naturaleza (no la población entera).

RESPUESTA 9-2 En organismos unicelulares el genoma es la línea germinal y cualquier modificación es transmitida a la siguiente generación. Al contrario, en los organismos multicelulares la mayor parte de las células son células somáticas y no contribuyen a la siguiente generación; por tanto, la modificación de estas células por transferencia génica horizontal no tendrá consecuencias para la siguiente generación. Las células de la línea germinal están generalmente aisladas en el interior de los organismos multicelulares, lo que minimiza su contacto con las células externas, los virus y el DNA; por tanto, aísla a la especie de los efectos de la transferencia génica horizontal. Sin embargo, la transferencia génica horizontal es posible para los organismos multicelulares. Por ejemplo, los genomas de algunas especies de insectos contienen DNA que fue transferido horizontalmente desde la bacteria que lo infectó.

RESPUESTA 9-3 Es improbable que cualquier gen se origine perfectamente optimizado para su función. El ambiente donde se encuentra un organismo es cambiable, de manera que ningún gen podría ser indefinidamente perfecto. Debido a que los RNA ribosómicos (y los productos de los genes altamente conservados) participan en procesos fundamentales, existe menos margen para el cambio. No obstante, existen diferencias significativas en los RNA ribosómicos entre especies.

RESPUESTA 9-4 Los elementos genéticos móviles podrían brindar oportunidades para los acontecimientos de recombinación homóloga y causar así reordenamientos genómicos. Pueden insertarse dentro de los genes, tal vez bloqueando sitios de corte y empalme, cambiando de esta forma la proteína producida por el gen. También pueden insertarse en una región reguladora de un gen, donde la inserción entre un potenciador y un sitio de inicio de la transcripción puede bloquear la función del potenciador y por esta razón reducir el nivel de expresión de un gen. Además, el elemento genético móvil podría en sí mismo contener un amplificador y de esta forma cambiar el tiempo y el lugar en el organismo donde se expresa el gen.

RESPUESTA 9-5 No es sencillo determinar la función de un gen desde el principio y no existe una receta universal sobre cómo realizarlo. De todas formas, hay una variedad de preguntas estándar que ayudan a reducir las posibilidades. A continuación se exponen algunas de estas preguntas.
¿En qué tejido se expresa el gen? Si el gen se expresa en todos los tejidos, probablemente tenga una función general. Si se expresa en uno o unos pocos tejidos, su función sería más especializada, quizás relacionada con las funciones especializadas de los tejidos. Si el gen se expresa en el embrión, pero no en el adulto, puede cumplir una función en el desarrollo.
¿En qué compartimiento de la célula se encuentra la proteína? El conocimiento de la localización subcelular de la proteína –núcleo, membrana plasmática, mitocondria, etc.– también puede ayudar a sugerir categorías de posibles funciones. Por ejemplo, una proteína que se localiza en la membrana plasmática probablemente sea un transportador, un receptor u otro componente de la vía de señalización, una molécula de adhesión celular, etc.
¿Cuáles son los efectos de las mutaciones en el gen? Las mutaciones que eliminan o modifican la función de un producto génico también pueden proporcionar claves sobre la función. Por ejemplo, si el producto génico es crítico en un determinado momento del desarrollo, con frecuencia el embrión morirá en este estadio o desarrollará anomalías obvias. A menos que la anomalía sea muy específica, suele ser difícil deducir la función o la categoría de función. Habitualmente las relaciones son muy indirectas y se tornan aparentes solo después de conocerse la función del gen.
¿Con qué otras proteínas interactúa la proteína codificada? Al llevar a cabo su función las proteínas interactúan con otras proteínas involucradas en el mismo proceso o en procesos estrechamente relacionados. Si una interacción proteica puede identificarse, y si su función ya se conoce (mediante investigaciones previas o en la búsqueda en bases de datos), la gama de funciones posibles puede reducirse de forma significativa.
¿En qué otros genes las mutaciones pueden suprimir los efectos de la mutación en el gen desconocido? Investigar sobre genes supresores puede ser un enfoque muy poderoso para investigar la función génica en organismos como bacterias y levaduras, que tienen sistemas genéticos simples. Aunque es mucho más difícil de realizar en el ratón, este tipo de enfoque puede ser utilizado. La razón de esta estrategia es análoga a la de investigar la interacción de las proteínas: los genes que interactúan genéticamente con frecuencia están involucrados en el mismo proceso o en procesos estrechamente relacionados. La identificación de esta interacción génica (y el conocimiento de su función) proporcionará una clave importante para la función del gen desconocido.
La resolución de cada una de estas preguntas requiere habilidades experimentales especializadas y un compromiso de tiempo por parte del investigador. No es sorprendente que el progreso se realice con mayor rapidez cuando puede hallarse una clave para una función génica simplemente mediante la identificación en la base de datos de un gen similar de función conocida. A medida que se estudian más y más genes, esta estrategia es cada vez más exitosa.

RESPUESTA 9-6 Con la capacidad para facilitar la recombinación genética, los elementos genéticos móviles han jugado casi seguramente un papel importante en la evolución de los organismos de la actualidad. Ellos pueden facilitar la duplicación génica y la creación de nuevos genes mediante el reordenamiento o barajado de exones y pueden cambiar el modo en el que se expresan los genes existentes. Aunque la transposición de un elemento genético móvil puede ser perjudicial para un organismo individual –si, por ejemplo, altera la actividad de un gen crítico–, estos agentes del cambio genético pueden ser beneficiosos para la especie como un todo.

RESPUESTA 9–7 Aproximadamente el 7,6% de cada gen se convierte en mRNA [(5,4 exones/gen × 266 pares de nucleótidos/exón)/(19.000 pares de nucleótidos/gen) = 7,6%]. Los genes que codifican proteínas ocupan cerca del 28% del cromosoma 22 [(700 genes × 19.000 pares de nucleótidos/gen)/(48 × 10^6 pares de nucleótidos) = 27,7%]. Sin embargo, cerca del 90% de este DNA esta constituido por intrones.

RESPUESTA 9-8 Esta afirmación probablemente sea cierta. Por ejemplo, casi la mitad de nuestro DNA está compuesto de elementos genéticos móviles. Sin embargo, es posible que futura

investigaciones revelen una función para este DNA aparentemente sin importancia.

RESPUESTA 9-9 El grupo HoxD está empaquetado con secuencias reguladoras complejas y extensas que garantizan la apropiada expresión de cada uno de sus genes en el tiempo y lugar correcto durante el desarrollo. Se piensa que la inserción de los elementos genéticos móviles en el grupo Hox no es seleccionada debido a que estos interrumpirían la regulación apropiada de los genes residentes.

RESPUESTA 9-10

A. Los exones en el gen de la β-globina humana corresponden a las posiciones de similitud de secuencia (en este caso identidad) con el cDNA, que es una copia directa del mRNA y, por lo tanto, no contienen intrones. Los intrones corresponden a las regiones entre los exones. Las posiciones de los intrones y de los exones en el gen de la β-globina humana están indicadas en la figura R9-10A.

B. A partir de las posiciones de los exones, como se define en la figura R9-10A, resulta evidente que los primeros dos exones del gen de la β-globina humana tienen sus equivalentes homólogos en el gen de la β-globina de ratón (Fig. R9-10B). Sin embargo, solo la primera mitad del tercer exón del gen de la β-globina humana es homólogo al gen de la β-globina de ratón. Las partes similares del tercer exón contienen secuencias que codifican proteínas, mientras que la parte que es diferente representa la región 3' sin traducir del gen. Debido a que esta porción del gen no codifica proteínas (ni contiene extensas secuencias reguladoras), no está limitada.

C. Los genes de la β-globina humano y de ratón también son homólogos en sus extremos 5', como se indica por los grupos de puntos a lo largo de la misma diagonal que el primer exón (Fig. R9-10B). Estas secuencias corresponden a las regiones reguladoras corriente arriba de los sitios de inicio de la trascripción. Las secuencias funcionales, que están bajo presión selectiva, divergen mucho más lentamente que las secuencias sin función.

D. La representación diagonal muestra que el primer intrón tiene casi la misma longitud en los genes humano y murino, pero la longitud del segundo intrón es notablemente diferente (Fig. R9-10B). Si los intrones tuviesen la misma longitud, los segmentos de líneas que representan similitud de secuencia deberían caer en la misma diagonal. El modo más fácil de analizar la colinealidad de los segmentos es inclinar la página y mirar a lo largo de la diagonal. Es imposible decir a partir de esta comparación si el cambio de la longitud se debe a un acortamiento del intrón murino, a un alargamiento del intrón humano o a alguna combinación de estas posibilidades.

RESPUESTA 9-11 Como es de imaginar, los algoritmos computacionales para buscar exones son sistemas complejos. Éstos combinan información estadística derivada de genes conocidos que incluye:

1. Un exón que codifica proteínas tendrá un marco abierto de lectura. Si la secuencia aminoacídica especificada por este marco abierto de lectura coincide con una secuencia proteica en cualquier base de datos, existe una alta probabilidad de que la misma sea un exón auténtico.
2. Los marcos abiertos de lectura de los exones adyacentes en el mismo gen coincidirán cuando la secuencia de intrones se omita.
3. Los exones internos (excluidos el primero y el último) tendrán señales de corte y empalme en cada extremo; la mayor parte del tiempo (98,1%) estos serán AG en los extremos 5' de los exones y GT en los extremos 3'.
4. Los múltiples codones que codifican la mayor parte de los aminoácidos individuales no se utilizan con la misma frecuencia. Este sesgo de la codificación puede utilizarse como ayuda en el reconocimiento de los exones verdaderos.
5. Los exones y los intrones tienen distribuciones de longitud características. La longitud media de los exones en los genes humanos es aproximadamente de 120 pares de nucleótidos. Los intrones tienden a ser mucho más grandes: una longitud media de alrededor de 2 kb en las regiones genómicas que contienen 30-40% de GC, y una longitud media de cerca de 500 pares de nucleótidos en las regiones con más de un 50% de GC.
6. El codón de iniciación de la síntesis de proteínas (casi siempre ATG) tiene una asociación estadística con los nucleótidos adyacentes que potenciarían su reconocimiento por parte de los factores de la traducción.
7. El exón terminal tendrá una señal (con mayor frecuencia AATAAA) para el corte y la poliadenilación cercano a su extremo 3'.

La naturaleza estadística de estas características junto con la baja frecuencia de la información codificada en el genoma (2-3%) y la frecuencia del corte y empalme alternativo (estimado en el 60% de los genes humanos) torna especialmente admirable que los algoritmos actuales puedan identificar más del 70% de los exones individuales en el genoma humano.

RESPUESTA 9-12 En una secuencia de DNA al azar, muy larga, cada uno de los 64 codones diferentes será generado con igual frecuencia. Debido a que 3 de los 64 son codones de terminación, se esperará que estos se encuentren presentes cada 21 codones (64/3 = 21,3) en promedio.

RESPUESTA 9-13 En apariencia la extraordinaria resistencia a la mutación sugiere que el código genético estuvo sujeto a las



Figura R9-10

fuerzas de selección natural. Una suposición subyacente, que parece ser razonable, es que la resistencia a la mutación es una característica valiosa del código genético. Este razonamiento sugiere que habría sido un accidente fortuito, por cierto, –aproximadamente uno en un millón de posibilidades– tropezar con un código tan a prueba de errores como el nuestro. Pero todo esto no es tan simple. Si la resistencia a la mutación es una característica esencial de cualquier código que pueda soportar la complejidad de organismos como los seres humanos, entonces los únicos códigos que deberíamos observar son los resistentes al error. Un accidente único menos favorable, que dé origen a un código propenso a más errores podría limitar la complejidad de vida a organismos demasiado simples como para ser capaces de contemplar su propio código genético. Esto es similar al principio antrópico de la cosmología: pueden ser posibles muchos universos, pero pocos son compatibles con la vida que pueda apreciar la naturaleza del universo.
Más allá de estas consideraciones, existe un amplio cuerpo de evidencia de que el código no es estático y, por lo tanto, puede responder a las fuerzas de la selección natural. Versiones desviadas del código genético estándar se han identificado en los genomas mitocondrial y nuclear de varios organismos. En cada caso uno o pocos codones han adquirido un nuevo significado.

RESPUESTA 9-14
B. No se piensa que la formación de genes de novo, a partir de la enorme cantidad de DNA no codificante sin uso típico de los genomas eucariontes, sea un proceso significativo en la contribución a la evolución de genes.

RESPUESTA 9-15
A. Debido a que los cambios sinónimos no alteran la secuencia de aminoácidos de la proteína, no afectan la aptitud general del organismo y, por lo tanto, no son sometidos a selección. Al contrario, los cambios no sinónimos, que sustituyen un nuevo aminoácido en lugar de uno original, tienen el potencial de alterar la función de la proteína codificada y cambiar la aptitud de organismo. Debido a que la mayor parte de las sustituciones de aminoácidos son perjudiciales para las funciones de la proteína, éstas no son seleccionadas.
B. El gen de la histona H3 debe ser puesto a punto con precisión para su función porque prácticamente todas las sustituciones de aminoácidos son perjudiciales y, como consecuencia, no son seleccionadas. La extrema conservación de la histona H3 pone de manifiesto que su función está estrechamente limitada, debido probablemente a grandes interacciones con otras proteínas y el DNA.
C. La histona H3 no está claramente en un sitio "privilegiado" en el genoma porque experimenta cambios de nucleótidos sinónimos a aproximadamente el mismo ritmo que otros genes.

RESPUESTA 9-16
A. Los datos en el árbol filogenético (Fig. P9-16) refutan la hipótesis que plantea que los genes de la hemoglobina de las plantas fueron adquiridos mediante transferencia horizontal. Al examinar las partes más familiares del árbol se observa que la hemoglobina de los vertebrados (del pez al ser humano) tiene las mismas relaciones filogenéticas como las especies en sí mismas. Además, las hemoglobinas vegetales también forman un grupo distinto que despliega relaciones evolutivas aceptadas, con la cebada, una monocotiledónea, que ha divergido antes que las judías (porotos), la alfalfa y el loto, que son todas dicotiledóneas (y las legumbres). El gen básico de la hemoglobina, por lo tanto, parece haber divergido largo tiempo atrás en la evolución. El árbol filogenético de la figura P9-16 indica que los genes de la hemoglobina en las especies de plantas y animales modernos fueron heredados de un ancestro.
B. Si los genes de la hemoglobina se hubiesen originado por transferencia horizontal a partir de un nematodo parasítico, entonces las secuencias de las plantas deberían agruparse con las secuencias de los nematodos en el árbol filogenético en la figura P9-16.

RESPUESTA 9-17
En cada linaje humano, se introducirán nuevas mutaciones a una tasa de 10^{-10} alteraciones por nucleótido por cada generación celular y la diferencia entre dos linajes humanos se incrementará al doble de este ritmo. La acumulación de 10^{-10} diferencias por nucleótido tomará $10^{-3}/(2 \times 10^{-10})$ generaciones celulares, que corresponden a $(1/200) \times 10^{-3}/(2 \times 10^{-10}) = 25.000$ generaciones humanas, o 750.000 años. En realidad, no somos todos descendientes de un par de seres humanos ancestrales genéticamente idénticos; en su lugar, es probable que seamos descendientes de una población fundadora de seres humanos relativamente pequeña que eran ya genéticamente diversos. Los análisis más sofisticados sugieren que esta población fundadora existió cerca de 150.000 años.

Capítulo 10

RESPUESTA 10-1 La presencia de una mutación en un gen no significa necesariamente que la proteína que expresa sea defectuosa. Por ejemplo, la mutación podría cambiar un codón por otro que especifica el mismo aminoácido, y entonces no cambia la secuencia de aminoácidos de la proteína. O la mutación puede causar un cambio de un aminoácido por otro en la proteína, pero en una posición que no es importante para el plegamiento o la función de la proteína. Al evaluar la probabilidad de que esa mutación produzca una proteína defectuosa es esencial la información sobre las mutaciones conocidas de la β-globina que se encuentran en los seres humanos. Por esta razón, usted tendrá interés en conocer el cambio preciso de nucleótido en su gen mutante y si este cambio tiene alguna consecuencia predecible o conocida para la función de la proteína codificada. Si su pareja tiene dos copias normales del gen de la globina, ninguno de sus hijos manifestará la enfermedad originada a partir de la hemoglobina defectuosa (talasemia); sin embargo, en promedio, el 50% de los hijos portarán uno de sus genes defectuosos.

RESPUESTA 10-2
A. La digestión con EcoRI produce:

5'-AAGAATTGCGG AATTCGAGCTTAAGGGCCGCGCCGAAGCTTTAAA-3'
3'-TTCTTAACGCCTTAA GCTCGAATTCCCGGCGCGGCTTCGAAATTT-5'

B. La digestión con AluI produce tres productos:

5'-AAGAATTGCGGAATTCGAG CTTAAGGGCCGCGCCGAAG CTTTAAA-3'
3'-TTCTTAACGCCTTAAGCTC GAATTCCCGGCGCGGCTTC GAAATTT-5'

C. La secuencia no contiene sitio de corte de NotI.

D. La digestión con las tres enzimas por lo tanto produce:

5'-AAGAATTGCGG AATTCGAG CTTAAGGGCCGCGCCGAAG CTTTAAA-3'
3'-TTCTTAACGCCTTAA GCTC GAATTCCCGGCGCGGCTTC GAAATTT-5'

RESPUESTA 10-3 La bioquímica de las proteínas todavía es muy importante, debido a que proporciona la relación entre la

secuencia de aminoácidos (que puede deducirse a partir de las secuencias de DNA) y las propiedades funcionales de la proteína. Nosotros somos, por ejemplo, incapaces aún de predecir el plegamiento de una cadena polipeptídica a partir de su secuencia de aminoácidos, de modo que en muchos casos la información sobre la función de la proteína, como su actividad catalítica, no se puede deducir sino que en su lugar se obtiene, en forma experimental del análisis bioquímico de las propiedades de las proteínas. Además, la información estructural que puede deducirse a partir de las secuencias de DNA es necesariamente incompleta. No se puede obtener información, por ejemplo, sobre las modificaciones de las proteínas, el procesamiento proteolítico, la presencia de moléculas pequeñas estrechamente unidas o la asociación de la proteína con otras subunidades. Además, no podemos predecir, con exactitud, los efectos que estas modificaciones tendrían sobre la actividad de la proteína.

RESPUESTA 10-4

A. Después de un ciclo adicional de amplificación habrá dos fragmentos grises, 4 verdes, 4 rojos y 22 recuadrados en amarillo; tras un segundo ciclo adicional habrá 2 fragmentos grises, 5 verdes, 5 rojos y 52 recuadrados en amarillo. Por lo tanto, los fragmentos de DNA recuadrados en amarillo aumentan en forma exponencial y por último exceden a los otros productos de reacción. Su longitud está precisamente determinada por la secuencia de DNA que abarca la distancia entre los dos cebadores utilizados en la amplificación.

B. La masa de una molécula de DNA de 500 pares de nucleótidos de longitud es de $5{,}5 \times 10^{-19}$ g [$= 2 \times 500 \times 330$ (g/mol)/6×10^{23} (moléculas/mol)]. Si se ignora la complejidad de las primeras etapas de la reacción de amplificación (que genera productos más largos que finalmente tienen una contribución insignificante al total de DNA amplificado), esta cantidad de producto aproximadamente se duplica en cada etapa de amplificación. Por esta razón, 100×10^{-9} g $= 2N \times 5{,}5 \times 10^{-19}$ g, donde N es el número de etapas de amplificaciones de la reacción. Al resolver esta ecuación para $N = \log(1{,}81 \times 10^{11})/\log(2)$ resulta $N = 37{,}4$. Por lo tanto, sólo cerca de 40 ciclos de amplificación de PCR son suficientes para amplificar DNA a partir de una sola molécula hasta una cantidad que pueda manipularse y analizarse bioquímicamente con facilidad. Este procedimiento en su totalidad toma sólo cerca de 4 horas en el laboratorio.

RESPUESTA 10-5 Si las enzimas de reparación actúan sobre un plásmido antes de ser replicado, el plásmido será reparado en las células. Sin embargo, las enzimas de reparación no pueden distinguir qué cadena de DNA contiene la mutación y cuál contiene el nucleótido normal. Por esta razón, en la mitad de las células que se han transformado con plásmidos con errores de apareamiento un gen normal es restaurado, mientras que en la otra mitad de las células la cadena normal se convierte de modo de aparearse con la cadena mutada y por lo tanto se propaga la mutación. Las células que contienen un plásmido con la mutación deseada pueden identificarse, por ejemplo, mediante hibridación con sondas de DNA de una sola cadena que permite distinguir entre los genes normales y mutantes.

RESPUESTA 10-6 Si la proporción de didesoxirribonucleósidos trifosfatos en relación con desoxirribonucleósidos trifosfatos se incrementa, con frecuencia se termina la polimerización y de esta forma se producen cadenas de DNA más cortas. Estas condiciones son favorables para determinar secuencias cortas de nucleótidos, esto es, las secuencias que están próximas al cebador de DNA utilizado en la reacción. En contraste, la disminución de la proporción de didesoxirribonucleósidos trifosfatos en relación con los desoxirribonucleósidos trifosfatos permite la determinación de secuencias de nucleótidos más distantes del cebador.

RESPUESTA 10-7 Aunque son posibles varias explicaciones, la más simple es que la sonda de DNA se ha hibridado predominantemente con el mRNA correspondiente, que cuando se expresa suele estar presente en las células en muchas más copias de las que hay del gen. Las células fuertemente hibridadas es probable que expresen el gen a elevados niveles y, por esta razón, tienen niveles altos de mRNA.

RESPUESTA 10-8 Como la enorme mayoría de los genes de mamífero, es probable que el gen de la atractasa contenga intrones. Las bacterias no tienen la maquinaria de corte y empalme requerida para eliminar los intrones y por esta razón la proteína correcta no puede expresarse a partir del gen. Para la expresión de la mayor parte de los genes en las células bacterianas se debe utilizar una versión de cDNA del gen.

RESPUESTA 10-9

A. Falso. Los sitios de restricción se encuentran a lo largo del DNA, que están dentro y entre los genes.

B. Verdadero. El DNA lleva una carga negativa en cada fosfato, lo que le proporciona al DNA una carga negativa general.

C. Falso. Los clones aislados a partir de las genotecas de cDNA nunca contienen secuencias promotoras. Estas secuencias no son transcriptas y por esta razón no son parte de los mRNA que se usan como moldes para hacer cDNA.

D. Verdadero. Cada reacción de polimerización produce DNA de doble cadena que debe, en cada ciclo, desnaturalizarse para permitir que se hibriden los nuevos cebadores, y así la cadena de DNA se copia de nuevo.

E. Falso. La digestión del DNA genómico con nucleasas de restricción que reconocen secuencias de cuatro nucleótidos producen fragmentos que tienen *en promedio* 256 nucleótidos de longitud. Sin embargo, la longitud real de los fragmentos producidos variará considerablemente en más o en menos.

F. Verdadero. La transcriptasa inversa primero es necesaria para copiar el mRNA hacia DNA de cadena simple, y la DNA polimerasa es luego requerida para producir la segunda cadena de DNA.

G. Verdadero. Utilizando un número suficiente de STR, se puede realizar especialmente la "huella genética" de los individuos (véase Fig. 10-19).

H. Verdadero. Si las células del tejido no transcriben el gen de interés, éste no estará representado en una genoteca de cDNA preparada a partir de este tejido. Sin embargo, estará representado en una genoteca genómica preparada a partir del mismo tejido.

RESPUESTA 10-10

A. La secuencia de DNA, desde su extremo 5′ a su extremo 3′, se lee comenzando desde la parte inferior del gel, donde migran los fragmentos de DNA más pequeños. Cada banda resulta a partir de la incorporación de los didesoxirribonucleósidos trifosfatos apropiados, y como se espera, no hay dos bandas que tengan la misma movilidad. Esto permite determinar la secuencia de DNA mediante la lectura de las bandas en estricto orden, procediendo hacia arriba desde la parte inferior del gel y asignando el nucleótido correcto de acuerdo con la fila en la que se encuentra la banda.
La secuencia de nucleótidos de la cadena superior (Fig. R10-10A) se obtuvo de la figura P10-10 y la cadena inferior se dedujo a partir de las reglas de complementariedad de apareamiento de bases.

```
(A)  5'-TATAAACTGGACAACCAGTTCGAGCTGGTGTTCGTGGTCGGTTTTCAGAAGATCCTAACGCTGACG-3'
     3'-ATATTTGACCTGTTGGTCAAGCTCGACCACAAGCACCAGCCAAAAGTCTTCTAGGATTGCGACTGC-5'

(B)    5'  cadena superior de DNA                                        3'
       TATAAACTGGACAACCAGTTCGAGCTGGTGTTCGTGGTCGGTTTTCAGAAGATCCTAACGCTGACG
     1 LeuLysLeuGluAsnGlnPheGlnLeuValPheValValGlyPheGlnLysIleLeuThrLeuThr
     2  IleAsnTrpThrThrSerSerSerTrpCysSerTrpSerValPheArgArgSer    Arg
     3     ThrGlyGlnProValArgAlaGlyValArgGlyArgPheSerGluAspProAsnAlaAsp
```

Figura R10-10

B. La secuencia de DNA puede traducirse después a una secuencia de aminoácidos utilizando el código genético. Sin embargo, hay dos cadenas de DNA que podrían transcribirse a RNA y tres posibles marcos de lectura para cada cadena. Por lo tanto, existen seis secuencias de aminoácidos que, en principio, pueden codificarse por este tramo de DNA. De los tres marcos de lectura posibles de la cadena superior sólo uno no es interrumpido por un codón de terminación (Fig. R10-10 B).

Desde la cadena inferior dos de los tres marcos de lectura también tienen codones de terminación (no mostrado). El tercer marco da la siguiente secuencia:

SerAlaLeuGlySerSerGluAsnArgProArgThrProAlaArgThrGlyCysProValIle

No es posible a partir de la información dada decir cuál de los dos "marcos abiertos de lectura" corresponde a la proteína real codificada por este tramo de DNA. ¿Qué otro experimento podría distinguir entre estas dos posibilidades?

RESPUESTA 10-11

A. La escisión del DNA genómico humano con HaeIII generará cerca de 11×10^6 fragmentos diferentes [$= 3 \times 10^9/4^4$], con EcoRI cerca de 730.000 fragmentos diferentes [$= 3 \times 10^9/4^6$] y con NotI aproximadamente 46.000 fragmentos diferentes [$= 3 \times 10^9/4^8$]. También se encontrarán algunos fragmentos adicionales generados debido a que los cromosomas paterno y materno son muy semejantes, pero no idénticos, en la secuencia de DNA.

B. Se generará un grupo de fragmentos de DNA que se superponen. Las genotecas construidas a partir de grupos de fragmentos superpuestos de un genoma son valiosas debido a que ellas pueden emplearse para ordenar secuencias clonadas en relación con sus órdenes originales sobre los cromosomas y, de esta forma, obtener la secuencia de un tramo largo de DNA (véase Fig. 10-27).

RESPUESTA 10-12 Si se lo compara con las posiciones de los marcadores de tamaño se puede observar que el tratamiento con EcoRI origina dos fragmentos de 4 kb y 6 kb; el tratamiento con NotI origina un fragmento de 10 kb; y el tratamiento con EcoRI + NotI origina tres fragmentos de 6 kb, 3 kb y 1 kb. Esto da una longitud total de 10 kb calculada como la suma de los fragmentos en cada fila. Por lo tanto, la molécula de DNA original debe ser de 10 kb (10.000 pares de nucleótidos) de longitud. Debido a que el tratamiento con NotI produce un fragmento de 10 kb de longitud podría ser que el DNA original sea una molécula lineal sin sitio de corte para NotI. Pero se puede descartar por los resultados de digestión de EcoRI + NotI. Se sabe que la escisión sola de EcoRI produce dos fragmentos de 6 kb y 4 kb, y en la digestión doble este fragmento de 4 kb es escindido con posterioridad por NotI en un fragmento de 3 kb y uno de 1 kb. Por consiguiente, el DNA contiene un único sitio de escisión para NotI y, por lo tanto, debe ser circular, ya que se produce un único fragmento de 10 kb cuando se corta con NotI solamente. La disposición de los sitios de corte sobre un DNA circular que da los tamaños apropiados de los fragmentos produce el mapa ilustrado en la figura R10-12.

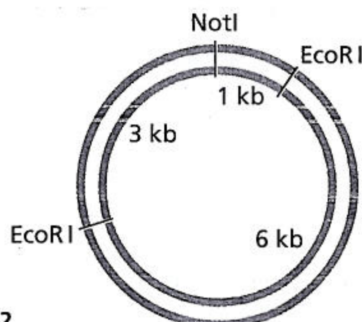


Figura R10-12

RESPUESTA 10-13

A. El código genético es degenerado, y hay más de un codón posible para cada aminoácido, con la excepción del triptófano y de la metionina. Por esta razón, para detectar la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos de la proteína se deben formar y mezclar muchas moléculas de DNA para garantizar que la mezcla contendrá la que se aparea exactamente con la secuencia de DNA del gen. En el caso de las tres secuencias peptídicas dadas en esta pregunta se requiere la producción de las siguientes sondas (las bases alternativas en la misma posición se dan entre paréntesis):

Péptido 1:

5'-TGGATGCA (C,T) CA (C,T) AA (A,G)-3'

Debido a las tres degeneraciones dobles se requerirán ocho ($=2^3$) secuencias de de DNA diferentes en la mezcla.

Péptido 2:

5'-(T,C) T (G,A,T,C) (A,T) (G,C) (G,A,T,C) (A,C) G (G,A,T,C) (T,C) T (G,A,T,C) (A,C) G (G,A,T,C)-3'

La mezcla que representa la secuencia del péptido número 2 es mucho más complicada. Leu, Ser y Arg son codificadas cada una por seis codones diferentes; por esta razón se necesitará sintetizar una mezcla de 7.776 ($=6^5$) moléculas diferentes de DNA. Sin embargo, esto no se podría efectuar simplemente con el uso de más de un nucleótido diferente en cualquier posición, debido a que las distintas bases en cada codón no son independientes. (Ser, por ejemplo, tiene A o T como la primera base del codón, G o C como la segunda base del codón, y G, A, T o C como la tercera base; sin embargo, cuando la primera base es A, la segunda base es siempre G y la tercera base puede ser sólo T o C).

Péptido 3:

5'-TA (C,T) TT (C,T) GG (G,A,T,C) ATGCA (A,G)-3'

Debido a las tres degeneraciones dobles y a la degeneración cuádruple, se requerirán 32 ($= 2^3 \times 4$) secuencias diferentes en la mezcla.

Es probable que usted utilice primero la sonda número 1 para examinar su genoteca mediante hibridación. Debido a que hay sólo ocho secuencias de DNA, el porcentaje de una secuencia correcta en relación con una incorrecta es el más

elevado, lo que le brindará la mejor posibilidad de encontrar el clon correspondiente. La sonda número dos es prácticamente inútil debido a que sólo 1/7.776 de los DNA en la mezcla hibridarán perfectamente el gen en estudio. Usted podría utilizar la sonda número 3 para verificar que el clon que obtuvo es correcto. Es muy probable que cualquiera de los clones de la genoteca que hibriden con las sondas número 1 y número 3 contenga el gen de interés.

B. El conocimiento de que la secuencia del péptido número 3 contiene el último aminoácido de la proteína es información valiosa, debido a que ésta nos dice que las otras dos secuencias peptídicas deben precederla, esto es, ellas deben localizarse hacia el extremo N-terminal de la proteína. Conocer este orden es importante porque los cebadores de DNA pueden extenderse por la DNA polimerasa sólo desde sus extremos 3'; por lo tanto, los extremos 3' de dos cebadores necesitan "estar frente a frente" uno con el otro durante la reacción de amplificación por PCR (véase Fig. 10-16). Por consiguiente, una PCR basada en un cebador sobre la secuencia del péptido número 3 debería ser complementaria a la secuencia de la sonda número 3 (de modo que el extremo 3' corresponda al primer nucleótido de la secuencia complementaria al codón de Trp):

5'-(TC) TGCAT (G,A,T,C) CC (G,A) AA (G,A) TA-3'

Como antes, este "cebador" contendría 32 secuencias de DNA diferentes, sólo una de las cuales se corresponderá perfectamente con el gen. La sonda número 1 podría ser su elección para el segundo cebador. La sonda número 2, nuevamente debido a su grado alto de degeneración, será una elección mucho menos apropiada.

C. Los extremos del producto de amplificación final son derivados a partir de los cebadores, cada uno es de 15 nucleótidos de longitud. Por esta razón, se amplificó un segmento de 270 nucleótidos de cDNA del gen. Éste codificará 90 aminoácidos; agregar los aminoácidos codificados por los cebadores le dará una secuencia codificante de proteína de 100 aminoácidos. Es improbable que esto represente el gen entero, Para su satisfacción, sin embargo, observe que CTATCACGCTTTAGG codifica la secuencia peptídica número 2. Esta información confirma, entonces, que su producto de PCR en efecto codifica un fragmento de la proteína aislada por usted al principio.

RESPUESTA 10-14
Los productos comprenderán un gran número de distintas moléculas de DNA de cadena simple, una por cada nucleótido en la secuencia. Sin embargo, cada molécula de DNA será de uno de los cuatro colores, según cuáles de los cuatro didesoxirribonucleótidos terminaron la reacción de polimerización de esa cadena. La separación mediante electroforesis en gel generará una escalera de bandas, cada una separando nucleótidos; la secuencia puede leerse por el orden de los colores (Fig. R10-14). El método descrito aquí forma las bases para la estrategia de secuenciación del DNA utilizada en la mayor parte de las máquinas de secuenciación automatizada (véase Fig. 10-22).

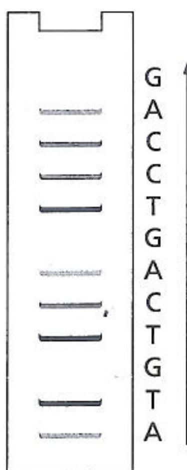


Figura R10-14

RESPUESTA 10-15
A. Los clones de cDNA no se pueden emplear debido a que no hay una superposición entre los dos clones de cDNA incluso si ellos provienen de genes adyacentes entre sí en el cromosoma.

B. Esas secuencias repetitivas de DNA pueden confundir los desplazamientos sobre el cromosoma ya que el desplazamiento podría parecer ramificarse en muchas direcciones diferentes a la vez. La estrategia general para evitar estos problemas consiste en utilizar clones genómicos que sean lo suficientemente largos como para sobrepasar las secuencias de DNA repetitivo.

RESPUESTA 10-16
A. Los niños 2 y 8 tienen patrones de STR idénticos y por esta razón deben ser gemelos idénticos. Los niños 3 y 6 también tienen patrones de STR idénticos y también deben ser gemelos idénticos. Los otros dos grupos de gemelos deben ser gemelos fraternos debido a que sus patrones de STR no son idénticos. Los gemelos fraternos, como cualquier par de hermanos nacidos de los mismos progenitores, tendrán aproximadamente la mitad de su genoma en común. Por lo tanto, cerca de la mitad de los polimorfismos STR en los gemelos fraternos serán idénticos. Utilizando este criterio usted puede identificar a los niños 1 y 7 como gemelos idénticos y a los niños 4 y 5 como gemelos fraternos.

B. Usted puede reunir a los niños con sus progenitores utilizando el mismo tipo de análisis de polimorfismos de STR. Cada banda presente en el análisis de un niño deberá tener un apareamiento de bandas en uno u el otro de los progenitores y, en promedio, cada niño compartirá la mitad de su polimorfismo de STR con cada progenitor. Por lo tanto, el grado de compatibilidad entre cada niño y cada progenitor será aproximadamente el mismo que entre los gemelos fraternos.

RESPUESTA 10-17
Las bacterias mutantes que no producen la proteína hielo probablemente se originaron muchas veces en la naturaleza. Sin embargo, las bacterias que producen la proteína hielo tienen una leve ventaja de crecimiento sobre las bacterias que no la forman, de modo que será difícil hallar esos mutantes en la naturaleza. La tecnología de DNA recombinante facilita la obtención de estos mutantes. En este caso, las consecuencias, ventajosas y desventajosas, de utilizar organismos modificados por ingeniería genética para una aplicación práctica son casi indistinguibles de las que deberían seguir al uso del mutante natural. En efecto, las cepas de bacterias y de levaduras se han seleccionado por siglos por rasgos genéticos deseables que las tornan más apropiadas para aplicaciones a escala industrial, como la producción de queso y de vino. Sin embargo, las posibilidades de la tecnología de DNA recombinante no tienen límites, y como con cualquier tecnología, se corre un riesgo limitado de que se originen consecuencias imprevistas. Es por esto que la experimentación con DNA recombinante está regulada y los riesgos de proyectos individuales son cuidadosamente evaluados por equipos de revisión antes de que los permisos sean concedidos. El estado de nuestro conocimiento está lo suficientemente avanzado como para que las consecuencias de ciertos cambios, como la alteración de un gen bacteriano en el ejemplo anterior, pueda predecirse con razonable certeza. Otras aplicaciones, como la terapia génica de línea germinal para corregir enfermedades humanas, pueden tener resultados más complejos, y tomará muchos más años de investigación y debate ético determinar si estos tratamientos finalmente se utilizarán.

Capítulo 11

RESPUESTA 11-1 El agua es un líquido y, por lo tanto, los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de agua no son estáticos;

se forman y se degradan continuamente por el movimiento térmico. Cuando una molécula de agua por casualidad está próxima a una molécula hidrófoba está más restringida en el movimiento y tiene menos vecinos con los que puede interactuar porque no puede formar ningún enlace de hidrógeno en la dirección de la molécula hidrófoba. Por consiguiente, formará enlaces de hidrógeno con un número más limitado de moléculas de agua en sus proximidades. La formación de enlaces con menos parejas da por resultado una estructura del agua más ordenada, que representa la estructura similar a la de una jaula como se muestra en la figura 11-9. Esta estructura se ha relacionado con el hielo, aunque es una red más transitoria y menos extensa y organizada que, incluso, un cristal de hielo diminuto. La formación de cualquier estructura ordenada disminuye la entropía del sistema y, por lo tanto, es desventajoso desde una perspectiva energética (véase capítulo 3).

RESPUESTA 11-2 (B) es la analogía correcta para el ensamblado de la bicapa lipídica debido a que está implicada la exclusión del agua en lugar de las fuerzas de atracción entre las moléculas lipídicas. Si las moléculas lipídicas generadas forman enlaces entre sí, la bicapa podría ser menos fluida e, incluso, podría tornarse menos rígida, según la fuerza de las interacciones.

RESPUESTA 11-3 La fluidez de la bicapa está estrictamente confinada a un plano: las moléculas de lípidos pueden difundir en sentido lateral en su propia monocapa, pero no pasan con facilidad de una monocapa a la otra. Por consiguiente, los tipos específicos de moléculas lipídicas insertadas en una monocapa permanecen en ella, a menos que sean transferidas en forma activa por una enzima, denominada flipasa.

RESPUESTA 11-4 Tanto en la hélice α como en el barril β los enlaces peptídicos polares del esqueleto polipeptídico pueden estar protegidos del entorno hidrófobo de la bicapa lipídica por las cadenas laterales hidrófobas de los aminoácidos. Los enlaces hidrogenados internos entre los enlaces peptídicos estabilizan la hélice α y el barril β.

RESPUESTA 11-5 El grupo sulfato del SDS está cargado y, en consecuencia es hidrófilo. El grupo OH y los grupos C-O-C del Tritón X-100 son polares; ellos pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua y, por lo tanto, son hidrófilos. Por el contrario, las porciones azules de las moléculas son cadenas hidrocarbonadas o anillos aromáticos, ninguno de los cuales tiene grupos polares que puedan formar enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua; por lo tanto, son hidrófobos (véase Fig. R11-5).

RESPUESTA 11-6 Las hélices α en las proteínas con frecuencia se utilizan para extender las bicapas lipídicas. Estas estructuras están bien adaptadas para tal propósito porque exponen cadenas laterales de aminoácidos hidrófobos al interior hidrófobo de la bicapa lipídica, si bien aíslan los enlaces peptídicos polares del esqueleto polipeptídico de la fase hidrófoba (véanse Figs. 11-22 a 11-25). Sin embargo, hay otras maneras menos frecuentes de plegar una cadena polipeptídica para alcanzar el mismo resultado, como se observa en el pequeño bucle del centro de reacción fotosintética. Esto ilustra la importancia de determinar estructuras tridimensionales que, hasta ahora, sólo se conocen para un escaso número de proteínas de membranas.

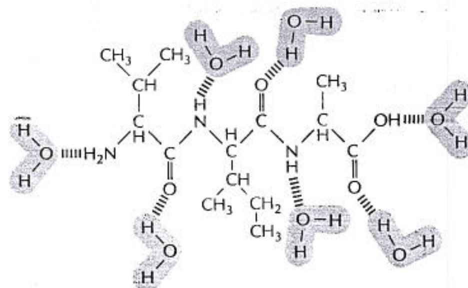


Figura R11-5

RESPUESTA 11-7 Algunas de las moléculas de las dos proteínas transmembrana diferentes están ancladas a los filamentos de espectrina de la corteza celular. Estas moléculas no rotan ni difunden libremente dentro del plano de la membrana. Sin embargo, hay un exceso de proteínas transmembrana sobre los sitios de adherencia disponibles en la corteza, de modo que algunas de las moléculas de proteínas transmembrana no están ancladas y rotan y difunden libremente dentro del plano de la membrana. En realidad, las mediciones de la movilidad de las proteínas muestran que hay dos poblaciones de cada proteína transmembrana, que corresponden a las proteínas que están ancladas y a las que no lo están.

RESPUESTA 11-8 Las distintas maneras por las que las proteínas de membrana pueden estar confinadas a regiones específicas de la membrana plasmática se resumen en la figura 11-33. La movilidad de las proteínas de membrana está drásticamente reducida si ellas están unidas a otras proteínas, como las del citoesqueleto o de la matriz extracelular. Algunas proteínas de membrana están confinadas a los dominios de membrana por barreras, como las uniones ocluyentes (o estrechas). La fluidez de la bicapa lipídica no se ve afectada de modo significativo por el anclaje de las proteínas de membrana; el mar de moléculas lipídicas fluye alrededor de las proteínas de membrana como el agua alrededor de los postes de un muelle.

RESPUESTA 11-9 Todas las afirmaciones son correctas.

A. B. C, D. La bicapa lipídica es fluida porque las moléculas de lípidos pueden sufrir estos desplazamientos.

E. Los glucolípidos están restringidos sobre todo a la monocapa de las membranas opuesta al citosol. Algunos glucolípidos especiales, como el fosfatidilinositol (descrito en el capítulo 16), se encuentran específicamente en la monocapa citosólica.

F. La reducción de los enlaces dobles (por hidrogenación) permite que las moléculas de lípidos se unan más firmemente entre sí y, por consiguiente, aumenta la viscosidad; es decir, en el caso de la margarina se convierte en aceite.

G. Entre los ejemplos se incluyen las enzimas implicadas en la señalización (descritas en el capítulo 16).

H. Los polisacáridos son los constituyentes principales del moco y de la capa mucilaginosa (*slime*); la cubierta de hidratos de carbono de una célula, compuesta de polisacáridos y oligosacáridos, es un lubricante muy importante, por ejemplo, en las células que revisten los vasos sanguíneos o las que circulan en el torrente sanguíneo.

RESPUESTA 11-10 En un fluido bidimensional las moléculas se desplazan libremente sólo en un plano; por el contrario, las moléculas en un fluido normal pueden moverse en tres dimensiones.

RESPUESTA 11-11

A. Usted tendría un detergente. El diámetro de la cabeza del lípido sería mucho más grande que la de la cola hidrocarbonada, de modo que la forma de la molécula estaría representada por un cono en lugar de un cilindro y las moléculas se agregarían formando micelas en lugar de bicapas.

B. Las bicapas lipídicas serían mucho más fluidas. Las bicapas también serían menos estables, las colas hidrocarbonadas más cortas serían menos hidrófobas, de modo que se reducirían las fuerzas que inducen la formación de la bicapa.

C. Las bicapas lipídicas formadas serían mucho menos fluidas. Mientras que una capa lipídica normal tiene la viscosidad del aceite de oliva, una bicapa formada por los mismos lípidos, pero con colas hidrocarbonadas saturadas tendría la consistencia de la grasa del tocino.

D. Las bicapas lipídicas formadas serían mucho más fluidas. Asimismo, dado que los lípidos estarían menos compactados habría más brechas y la bicapa sería más permeable a las pequeñas moléculas hidrosolubles.

E. Si asumimos que las moléculas de lípidos están completamente entremezcladas, la fluidez de la membrana quedaría sin cambios. Sin embargo, en estas bicapas las moléculas lipídicas saturadas tenderían a agregarse entre sí dado que pueden compactarse con mucha mayor firmeza y, por consiguiente, formarían parches con fluidez muy reducida. Por lo tanto, la bicapa no tendría propiedades uniformes sobre su superficie. Dado que normalmente una cola hidrocarbonada saturada y una no saturada se unen a la misma cabeza hidrófila de las moléculas de lípidos de membrana, esta segregación no sucede en las membranas celulares.

F. Las bicapas lipídicas formadas tendrían prácticamente propiedades sin cambios. Cada molécula lipídica abarcaría ahora la membrana entera, con uno de sus dos grupos de cabeza expuesto a cada superficie. Estas moléculas lipídicas se encuentran en las membranas de las bacterias termófilas, que pueden vivir a temperaturas cercanas a la de ebullición del agua. Sus bicapas no se separan a temperaturas elevadas, como lo suelen hacer las bicapas, porque las dos monocapas originales están unidas de modo covalente en una única membrana.

RESPUESTA 11-12 Las moléculas lipídicas tienen una forma casi cilíndrica. Por el contrario, las moléculas de detergente presentan forma cónica o en cuña. Una molécula lipídica con sólo una cola hidrocarbonada, por ejemplo, sería un detergente. Para convertir una molécula lipídica en un detergente usted tendría que hacer que la cabeza hidrófila fuese más grande o eliminar una de sus colas, de modo que ella pueda formar una micela. Las moléculas de detergente suelen tener colas hidrocarbonadas más cortas que las moléculas lipídicas. Esto las convierte en algo más hidrosoluble, de modo que las moléculas de detergente abandonan y vuelven a ingresar a las micelas con frecuencia en solución acuosa. Por esto, algunas moléculas de detergente monomérico siempre están presentes en solución acuosa y, por consiguiente, pueden atravesar las bicapas lipídicas y solubilizar las proteínas de membrana (véase Fig. 11-27).

RESPUESTA 11-13 Si se ponen en fila, hay cerca de 4.000 moléculas de lípidos (cada una de 0,5 nm de ancho) entre una molécula lipídica en un extremo de la célula bacteriana y otra en el otro extremo. Por lo tanto, si una de estas moléculas comenzó a desplazarse hacia la otra intercambiando posiciones con una molécula vecina cada 10^{-7} segundos, podría tardar sólo 4×10^{-4} segundos (= 4.000×10^{-7} segundos) para alcanzar el otro extremo. No obstante, como la molécula lipídica se desplaza en un camino al azar en lugar de hacerlo con una dirección definida tardaría considerablemente más (1 segundo) para alcanzar el otro extremo. Si una pelota de ping-pong (4 cm) intercambiara posiciones con una vecina cada 10^{-7} segundos, debería viajar a una velocidad de 1.440.000 km/h (= 4 cm/10^{-7} segundos). Si su movimiento fuera sólo en una dirección alcanzaría la otra pared en $1,5 \times 10^{-5}$ segundos y, si continuara, daría la vuelta a la Tierra en alrededor de 2 minutos. En un desplazamiento aleatorio podría tardar considerablemente más para alcanzar el otro lado de la habitación (~2 meses).

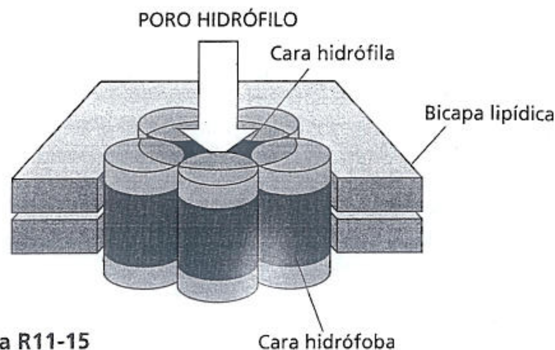


Figura R11-15

RESPUESTA 11-14 Las proteínas de membrana contribuyen al anclaje de la bicapa lipídica al citoesqueleto, que fortalece la membrana plasmática de modo que pueda soportar las fuerzas sobre el eritrocito durante el bombeo de éste a lo largo de los vasos sanguíneos de pequeño calibre. Asimismo, las proteínas de membrana transportan nutrientes e iones a través de la membrana plasmática.

RESPUESTA 11-15 Se considera que las superficies hidrófilas de las cinco subunidades de las hélices α que abarcan el espesor de la membrana se unen y forman un poro que atraviesa la bicapa lipídica y que está revestido por las cadenas laterales hidrófilas de aminoácidos (Fig. R11-15). Los iones pueden pasar a través de este poro hidrófilo sin tomar contacto con las colas de lípidos de la bicapa. Las cadenas laterales hidrófobas interactúan con las colas lipídicas hidrófobas.

RESPUESTA 11-16 Hay cerca de 100 moléculas lipídicas (es decir, fosfolípido + colesterol) por cada molécula de proteína en la membrana [= (2/50.000)/(1/800 + 1/256)]. Una relación proteína/lípido similar se observa en muchas membranas celulares.

RESPUESTA 11-17 La fusión de membrana no altera la orientación de las proteínas de membrana con sus marcadores de color adheridos: la porción de cada proteína transmembrana que está expuesta al citosol siempre permanece expuesta a éste y la porción expuesta al exterior siempre permanece expuesta a él (Fig. R11-17). A 0°C se reduce la fluidez de la membrana y disminuye significativamente el tiempo de mezclado de las proteínas de membrana.

RESPUESTA 11-18 La exposición de las cadenas laterales hidrófobas de aminoácidos al agua es desventajoso desde una perspectiva energética. Hay dos maneras de que estas cadenas

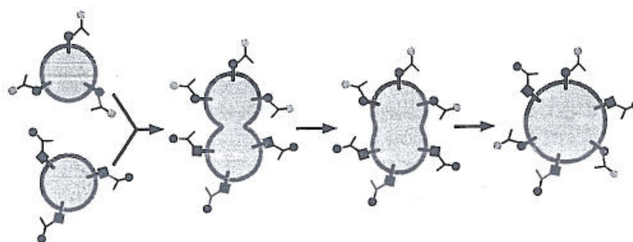


Figura R11-17

laterales puedan ser asiladas por el agua para alcanzar un estado energético más ventajoso. En primer lugar, pueden formar segmentos transmembrana que abarcan el espesor de bicapa lipídica. Esto requiere cerca de 20 de ellos ubicados en forma secuencial en una cadena polipeptídica. En segundo lugar, las cadenas laterales hidrófobas de aminoácidos pueden estar aisladas en el interior de la cadena polipeptídica plegada. Esta es una de las fuerzas principales que atrapa la cadena polipeptídica dando una estructura tridimensional exclusiva. En cualquiera de los casos, las fuerzas hidrófobas en la bicapa lipídica o en el interior de una proteína se basan en principios similares.

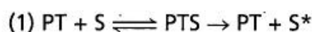
RESPUESTA 11-19 (A) El pez antártico vive a temperaturas por debajo de 0°C y es de sangre fría. Para mantener sus membranas líquidas a estas temperaturas cuentan con un porcentaje elevado de fosfolípidos insaturados.

RESPUESTA 11-20 Lo más probable es que la secuencia B forme una hélice transmembrana. Esta secuencia está compuesta sobre todo de aminoácidos hidrófobos y, en consecuencia, puede estar integrada de manera estable a la bicapa lipídica. Por el contrario, la secuencia A contiene muchos aminoácidos polares (S, T, N, Q) y la secuencia C contiene muchos aminoácidos cargados (K, R, H, E, D), que podrían ser desventajosos desde una perspectiva energética en el interior hidrófobo de la bicapa lipídica.

Capítulo 12

RESPUESTA 12-1

A. El transporte mediado por una proteína transportadora puede describirse mediante una ecuación estrictamente análoga:



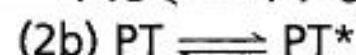
$$(1)\ PT + S \rightleftharpoons PTS \rightarrow PT + S^*$$

donde S es el soluto, S* es el soluto presente del lado opuesto de la membrana (es decir, la misma molécula pero inmersa en un medio distinto) y PT es la proteína transportadora.

B. Esta ecuación es útil porque describe un paso de unión seguido de un paso de liberación del ligando. El tratamiento matemático de esta ecuación sería muy similar al descrito en el caso de las enzimas (véase Fig. 3-24); así, las proteínas transportadoras se caracterizan por un valor K_M que describe su afinidad por un soluto y un valor $V_{máx}$ que describe la velocidad máxima de transferencia. Para obtener un resultado más preciso podría incluirse en la reacción el cambio conformacional de la proteína transportadora:



$$(2a)\ PT + S \rightleftharpoons PTS \rightleftharpoons PT^*S^* \rightarrow PT^* + S^*$$



$$(2b)\ PT \rightleftharpoons PT^*$$

donde PT* es la proteína transportadora después del cambio conformacional que expone su sitio de unión de soluto del lado opuesto de la membrana. Este cálculo requiere una segunda ecuación (2b) que permita que la proteína transportadora recupere su conformación original.

C. Estas ecuaciones no describen el comportamiento de los canales iónicos, dado que los solutos que pasan a través de estos canales no se unen a ellos del mismo modo que un sustrato se une a una enzima.

RESPUESTA 12-2 Si la bomba de Na^+-K^+ no funciona con toda su capacidad debido a su inhibición parcial por la acción de la ouabaína o el digital, el gradiente electroquímico de Na^+ que genere será de menor magnitud que el generado en las células no tratadas con estos fármacos. En consecuencia, la función del antiportador Ca^{2+}-Na^+ será menos eficiente y la salida de Ca^{2+} desde la célula será más lento. Este fenómeno determina que en el momento en que comienza el siguiente ciclo de contracción muscular la concentración de Ca^{2+} en el citosol continúe siendo elevada. Por consiguiente, el ingreso de la misma cantidad de iones Ca^{2+} en el interior de la célula conducirá a una concentración intracelular de Ca^{2+} más elevada que en las células no tratadas, lo que a su vez determinará una contracción más intensa y prolongada. Dado que la bomba de Na^+-K^+ cumple funciones vitales en todas las células animales, tanto en lo que respecta al equilibrio osmótico como a la generación del gradiente de Na^+ utilizado por diversos transportadores, en concentraciones más elevadas estos fármacos son venenos letales.

RESPUESTA 12-3

A. Las propiedades definen un simportador.

B. No es necesario agregar otras propiedades. La característica importante del acoplamiento de dos solutos consiste en que la proteína no puede modificar su conformación si se une a ella sólo uno de los dos solutos. El soluto B, que impulsa el transporte del soluto A, se encuentra en una concentración excesiva del lado de la membrana en el que se inicia el transporte y ocupa su sitio de unión la mayor parte del tiempo. En este estado la proteína transportadora no puede modificar su conformación y debe esperar que se produzca la unión de una molécula del soluto A. Una vez ocupados ambos sitios de unión, la proteína transportadora cambia de conformación. El sitio de unión para el soluto B, ahora expuesto del lado contrario de la membrana, se encuentra esencialmente desocupado debido a que de este lado de la membrana la concentración del soluto es baja. Si bien en esta situación el sitio de unión para el soluto A se encuentra ocupado con mayor frecuencia, la proteína transportadora sólo puede cambiar de conformación después de que también se libere el soluto A.

C. Un antiportador puede definirse como una proteína transmembrana que posee las siguientes propiedades: consta de dos sitios de unión, uno para el soluto A y otro para el soluto B; puede experimentar un cambio conformacional y alternar entre dos estados diferentes (con ambos sitios de unión expuestos exclusivamente de un lado de la membrana o con ambos sitios de unión expuestos exclusivamente del lado opuesto); puede pasar de un estado a otro únicamente en el caso de que un solo sitio de unión esté ocupado pero no en los casos de que ambos estén ocupados o desocupados. Nótese que estas reglas representan un modelo alternativo respecto del ilustrado en la figura 12-14. En consecuencia, existen dos formas posibles de acoplar el transporte de dos solutos: 1) proporcionan sitios de unión para solutos cooperativos y dejar que la bomba alterne en forma aleatoria entre los dos estados como se ilustra en la figura 12-16; 2) permitir la unión independiente de ambos solutos de manera que el paso de un estado a otro dependa del grado de ocupación de los sitios de unión. Dado que la estructura del transportador acoplado aún ha sido dilucidada, no es posible saber con certeza cuál de estos mecanismos utiliza la bomba.

RESPUESTA 12-4 Cada pico rectangular corresponde a la apertura de un solo canal que permite el paso de una corriente de escasa magnitud. El trazado muestra que los canales presentes en la zona de membrana se abren y cierran con frecuencia. Cada canal permanece abierto durante un lapso muy breve

cuya duración es ligeramente variable y promedia los 10 milisegundos. Durante la apertura los canales iónicos permiten el paso de una corriente de escasa magnitud con una amplitud dada (4 pA; un picoampère = 10^{-12} A). En un momento dado la intensidad de la corriente se duplica, lo que indica la apertura simultánea de dos canales en el mismo segmento de membrana.

Si se elimina o se agrega acetilcolina a la solución que circunda el microelectrodo la medición reflejaría exclusivamente la corriente basal. Para que se produzca la apertura del canal es necesario que la acetilcolina se una a la fracción extracelular de sus receptores y en la zona de membrana ilustrada en la figura 12-23 el lado de la membrana expuesto a la solución que rodea al microelectrodo es el citoplasmático.

RESPUESTA 12-5 El potencial de equilibrio para el K^+ es -90 mV [= 62 mV $\log_{10}$ (5 mM/40 mM)] y el potencial de equilibrio para el Na^+ es +72 mV [= 62 mV $\log_{10}$ (145 mM/10 mM)]. Los canales de K^+ en la membrana plasmática de una célula en reposo permiten que el K^+ se equilibre; en consecuencia, el potencial de membrana de la célula se aproxima a -90 mV. En el momento en que se abren los canales de Na^+, el Na^+ se precipita hacia el interior de la célula e invierte la polaridad del potencial de membrana hasta un valor cercano a +72 mV, es decir, el valor de equilibrio para el Na^+. Cuando los canales de Na^+ se cierran los canales de fuga de K^+ permiten que el K^+, que ya no se encuentra en equilibrio, salga de la célula hasta que el potencial de membrana recupere el valor de equilibrio para el K^+ (alrededor de -90 mV).

RESPUESTA 12-6 Cuando el potencial de membrana de un axón desciende por debajo de un valor umbral, los canales de Na^+ regulados por voltaje localizados en la vecindad inmediata se abren y permiten el paso de Na^+ hacia el interior de la célula. Este fenómeno aumenta la despolarización de la membrana e induce la apertura de otros canales regulados por voltaje situados en sitios más alejados. Este proceso genera una onda de despolarización, conocida con el nombre de potencial de acción, que se propaga rápidamente a lo largo del axón. Dado que los canales de Na^+ se inactivan poco tiempo después de su apertura, el flujo de K^+ a través de canales de K^+ regulados por voltaje y canales de fuga de K^+ puede restablecer el potencial de membrana en reposo inicial poco tiempo después de que haya pasado el potencial de acción (142 palabras).

RESPUESTA 12-7 Si la cantidad de receptores funcionales de acetilcolina disminuye debido a la acción de los anticuerpos, el neurotransmisor (acetilcolina) liberado desde las terminaciones nerviosas no será capaz de estimular la contracción del músculo o inducirá una contracción muscular muy débil.

RESPUESTA 12-8

Por analogía con la bomba de Na^+-K^+ ilustrada en la figura 12-11, el ATP puede experimentar un proceso de hidrólisis y donar un grupo fosfato a la proteínas transportadora *sólo* después de que el soluto se una al lado "interno" de la membrana (paso 1 → 2). La unión del grupo fosfato desencadenará un cambio conformacional inmediato (paso 2 → 3) seguido de la captación del soluto y su exposición del lado "externo" de la membrana. El fosfato será eliminado de la proteína *sólo* después de que el soluto se haya disociado y la proteína transportadora no fosforilada, ahora desocupada, recupere la posición original (paso 3 → 4) (Fig. R12-8).

RESPUESTA 12-9

A. Falso. La membrana plasmática contiene proteínas que confieren permeabilidad selectiva a numerosas moléculas con carga. Por el contrario, una bicapa lipídica pura (desprovista de proteínas) es altamente impermeable a todas las moléculas con carga.

B. Falso. Las proteínas de canal no se unen al soluto que las atraviesa. La selectividad de un canal iónico depende del tamaño de los poros internos y de las regiones cargadas en la entrada del poro, que atraen o repelen los iones con las cargas correspondientes.

C. Falso. Las proteínas transportadoras son más lentas. Estas proteínas tienen propiedades similares a las de las enzimas, es decir, se unen a los solutos y deben experimentar cambios conformacionales durante el ciclo funcional. Estos requerimientos limitan la velocidad máxima de transporte a alrededor de 1.000 moléculas de soluto por segundo, mientras que las proteínas de canal pueden transferir alrededor de 1.000.000 de moléculas de soluto por segundo.

D. Verdadero. La bacteriorrodopsina de algunas bacterias fotosintéticas transporta H^+ utilizando energía captada de la luz visible.

E. Verdadero. La membrana plasmática de la mayoría de las células animales contiene canales de fuga de K^+ que se encuentran preferentemente abiertos. A pesar de ello, la concentración de K^+ en el interior de la célula continúa siendo mayor que la concentración extracelular debido a que el potencial de membrana es negativo y, en consecuencia, inhibe el paso al exterior de los iones K^+ de carga positiva. Además, el K^+ es expulsado de la célula en forma continua por la bomba de Na^+-K^+.

F. Falso. Un simportador se une a dos solutos distintos del mismo lado de la membrana. La inversión de este simportador no lo convierte en un antiportador, el que también debe unirse a diferentes solutos pero en los lados opuestos de la membrana.

G. Falso. El pico del potencial de acción se corresponde con una desviación transitoria del potencial de membrana desde un valor negativo hacia un valor positivo. El ingreso de Na^+ determina que el potencial de membrana en primer lugar se acerque a cero y luego se invierta, lo que significa que la célula se encuentre cargada positivamente en su lado interno. Con el transcurso del tiempo el potencial de

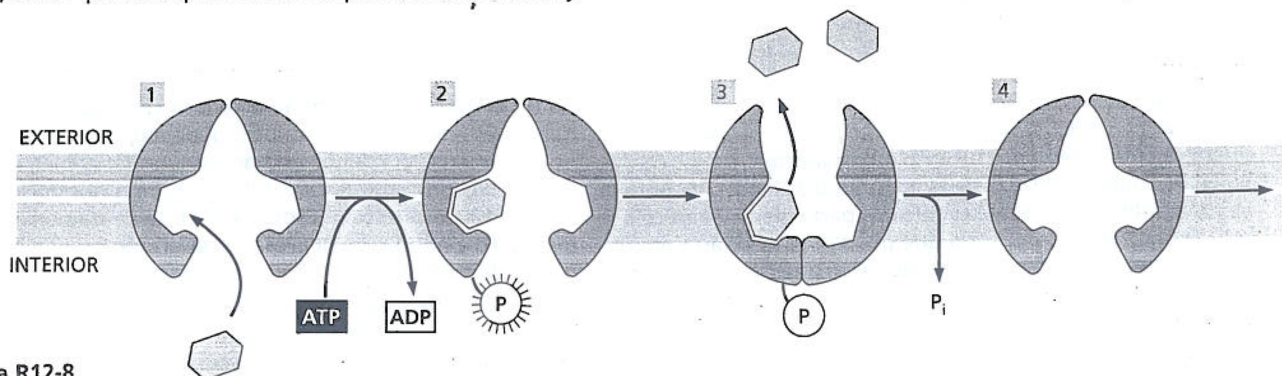


Figura R12-8

reposo se restablece debido a la salida de K^+ a través de los canales de K^+ regulados por voltaje y los canales de fuga de K^+.

RESPUESTA 12-10 El orden decreciente de permeabilidad de estas moléculas es el siguiente: N_2 (pequeñas y no polares) > etanol (pequeñas y ligeramente polares) > agua (pequeñas y polares) > glucosa (grandes y polares) > Ca^{2+} (pequeñas y cargadas) > RNA (muy grandes y cargadas).

RESPUESTA 12-11

A. Ambos acoplan el transporte de dos solutos distintos a través de la membrana. Los simportadores transportan ambos solutos en la misma dirección mientras que los antiportadores transportan ambos solutos en direcciones opuestas.

B. Ambos son mediados por proteínas de transporte de membrana. El transporte pasivo de un soluto se realiza cuesta abajo, es decir, a favor de su gradiente de concentración o su gradiente electroquímico, mientras que el transporte activo se realiza cuesta arriba y, en consecuencia, necesita una fuente de energía. El transporte activo puede ser mediado por proteínas transportadoras pero no por proteínas de canal, mientras que el transporte pasivo puede ser mediado por ambos tipos de proteínas.

C. Ambos términos describen los cambios de energía relacionados con el desplazamiento de un ión de un lado a otro de la membrana. El potencial de membrana se refiere al cambio de energía eléctrica; el gradiente electroquímico es una combinación del cambio de energía eléctrica y el cambio de energía química asociados con el desplazamiento desde una zona de alta concentración hacia una zona de baja concentración. El potencial de membrana se define independientemente del ión seleccionado mientras que el gradiente electroquímico depende del gradiente de concentración del soluto iónico considerado y, en consecuencia, es un parámetro específico para el soluto.

D. Una bomba es una proteína transportadora especializada que utiliza energía para transportar un soluto cuesta arriba en contra de un gradiente electroquímico.

E. Ambos transmiten señales mediante la actividad eléctrica. Los cables están compuestos por hilos de cobre y los axones no. La señal que recorre un axón no disminuye de intensidad debido a un mecanismo de autoamplificación mientras que la señal que recorre un cable disminuye de intensidad en relación directamente proporcional a la distancia recorrida (debido a la fuga de corriente a través de la cubierta aislante).

F. Ambos afectan la presión osmótica de la célula. Un ión es un soluto portador de una carga.

RESPUESTA 12-12 Un puente permite el paso de vehículos sobre un río en un flujo constante, el ingreso al puente puede diseñarse para excluir, por ejemplo, camiones de gran tamaño y puede cerrarse en forma intermitente mediante una compuerta. Por analogía, los canales permiten el flujo de iones a través de la membrana en forma de una corriente regulada por limitaciones de tamaño y carga.
Por el contrario, un transbordador carga vehículos en una ribera del río y mediante su propio desplazamiento los descarga en la ribera opuesta. Este proceso es más lento. Durante la carga pueden seleccionarse vehículos particulares de la cola de vehículos en espera debido a que pueden acomodarse mejor sobre la cubierta del transbordador. Por analogía, las proteínas transportadoras fijan solutos de un lado de la membrana y, después de experimentar un cambio conformacional, los liberan del lado opuesto. La unión específica de solutos permite seleccionar las moléculas que se van a transportar. Al igual que en el caso del transporte acoplado, a veces es necesario esperar hasta que el transbordador se llene para que parta hacia su destino.

RESPUESTA 12-13 La acetilcolina es transportada hacia las vesículas por un antiportador H^+-acetilcolina presente en la membrana de la vesícula. El gradiente de H^+ que impulsa la captación de acetilcolina es generado por una bomba de H^+ impulsada por ATP de la membrana vesicular que bombea H^+ hacia el interior de la vesícula (de allí la dependencia del ATP de la reacción). El aumento del pH de la solución que circunda las vesículas incrementa el gradiente de H^+: en presencia de un pH elevado disminuye la cantidad de iones H^+ en la solución que baña el exterior de las vesículas sin alterar la cantidad de iones H^+ en el interior. Este fenómeno explica el aumento observado de la velocidad de captación.

RESPUESTA 12-14 El gradiente de voltaje a través de la membrana es de alrededor de 150.000 V/cm. Este campo eléctrico extremadamente potente se aproxima al límite donde los materiales aislantes, como la bicapa lipídica, se degradan y dejan de actuar como aislantes. El campo de mayor tamaño corresponde a la gran cantidad de energía que puede almacenarse en gradientes eléctricos a través de la membrana, así como a las fuerzas eléctricas extremas a las que están sometidas las proteínas en una membrana. Un voltaje de 150.000 V descargaría en forma instantánea en un arco a través de un espacio de 1 cm de aire (es decir, el aire sería un aislante insuficiente en este tipo de campo).

RESPUESTA 12-15

A. Nada. Se requeriría ATP para impulsar la bomba de Na^+-K^+.

B. El ATP es hidrolizado y el Na^+ es bombeado hacia el interior de las vesículas, lo que genera un gradiente de concentración de Na^+ a través de la membrana. Simultáneamente, el K^+ es bombeado hacia el exterior de las vesículas, lo que genera un gradiente de concentración de K^+ de polaridad opuesta. La bomba interrumpirá su función una vez que se haya bombeado la totalidad del K^+ hacia el exterior de las vesículas o se haya consumido todo el ATP.

C. La bomba de Na^+-K^+ pasa por los estados 1, 2 y 3 de la figura 12-11. Sin embargo, dado que todos estos pasos de la reacción deben tener lugar en forma estrictamente secuencial, la desfosforilación y el cambio de conformación no pueden producirse en ausencia de K^+. En este caso, la bomba de Na^+-K^+ permanecerá en estado de fosforilación, es decir esperando indefinidamente un ión de potasio. La cantidad de iones de sodio transportados sería ínfima, dado que cada molécula de bombeo habría funcionado sólo una vez. Se realizaron experimentos similares separando iones individuales y analizando las consecuencias de estos procedimientos para determinar la secuencia de pasos responsable de la función de la bomba de Na^+-K^+.

D. El ATP experimentaría un proceso de hidrólisis y el Na^+ y el K^+ serían bombeados hacia el exterior de la membrana como se describió en A. Sin embargo, las moléculas de bombeo que se orientan en dirección inversa en la membrana estarían completamente inactivas (es decir, a diferencia de lo que podría suponerse erróneamente, no bombearían iones en la dirección opuesta), dado que el ATP no podría acceder al sitio de estas moléculas en el que se produce la fosforilación. En condiciones normales este sitio está expuesto al citosol. El ATP tiene una carga de alta magnitud y no puede atravesar membranas sin la ayuda de proteínas transportadoras específicas.

E. El ATP experimentaría un proceso de hidrólisis y el Na^+ y el K^+ serían bombeados hacia el exterior de la membrana como se describió en A. Sin embargo, el K^+ refluye inmedia-

tamente hacia las vesículas a través de los canales de fuga de K^+. El K^+ se desplaza a favor del gradiente de concentración de K^+ generado por la acción de la bomba de Na^+-K^+. Por cada molécula de K^+ que ingresa en una vesícula a través del canal de fuga se desplaza una carga positiva a través de la membrana, lo que genera un potencial de membrana con carga positiva en la cara interna de las vesículas. Con el transcurso del tiempo el K^+ dejará de fluir a través de los canales de fuga en el momento en que el potencial de membrana equilibre el gradiente de concentración. La situación descrita representa una simplificación excesiva; en realidad, la bomba de Na^+-K^+ de los mamíferos expulsa tres iones de sodio hacia el medio extracelular por cada dos iones de potasio que bombea hacia el interior de la célula, lo que genera una corriente eléctrica a través de la membrana y contribuye, en pequeña medida, al potencial de membrana de reposo que, en consecuencia, se corresponde sólo aproximadamente con un estado de equilibrio para el K^+ que se desplaza a través de los canales de fuga de K^+.

RESPUESTA 12-16 Los canales iónicos pueden estar regulados por ligando,
por voltaje o en forma mecánica.

RESPUESTA 12-17
La célula posee un volumen de 10^{-12} litros (= 10^{-15} m^3) y, por lo tanto, contiene 6×10^4 iones de calcio (= 6×10^{23} moléculas/mol $\times$ 100×10^{-9} moles/litro $\times$ 10^{-12} litros). En consecuencia, para poder aumentar 50 veces la concentración intracelular del Ca^{2+} es necesario que ingresen en la célula otros 2.940.000 iones de calcio (nótese que en presencia de una concentración intracelular de Ca^{2+} de 5 mM la célula está ocupada por 3×10^6 iones, de los cuales 60.000 ya se encontraban presentes antes de la apertura de los canales). Dado que cada uno de los 1.000 canales permite el paso de 10^6 iones por segundo, cada canal debería permanecer abierto durante un lapso de tan solo 3 milisegundos.

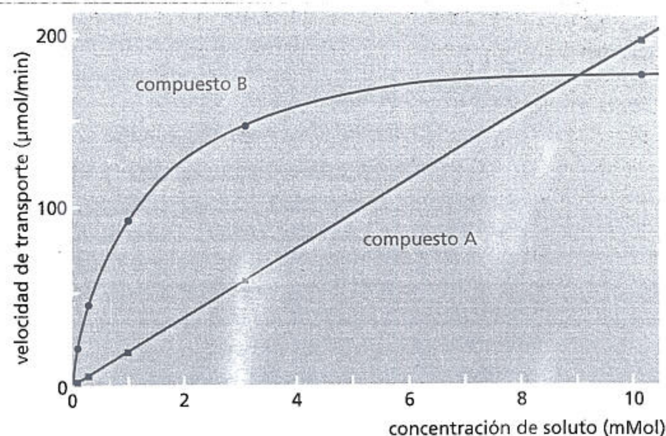
RESPUESTA 12-18
Las células animales impulsan la mayoría de los procesos de transporte a través de la membrana plasmática mediante el gradiente electroquímico de Na^+. El ATP es necesario para alimentar la bomba de Na^+-K^+ a fin de mantener el gradiente de Na^+.

RESPUESTA 12-19
A. Si los iones H^+ se bombean a través de la membrana hacia los endosomas se generará un gradiente electroquímico de H^+, compuesto por un potencial eléctrico y un gradiente de concentración, con positividad en el interior de las vesículas. Ambos componentes se suman a la energía almacenada en el gradiente que, además, es necesaria para generarlo. En consecuencia, el gradiente electroquímico limitará el transporte ulterior de H^+. Sin embargo, si la membrana también contiene canales de Cl^-, el Cl^- de carga negativa fluirá hacia el interior de los endosomas y reducirá el potencial eléctrico. Por ende, desde una perspectiva energética será más económico bombear una cantidad adicional de H^+ a través de la membrana para aumentar la acidez del interior de los endosomas.

B. Sí. Como se explicó en A, en ausencia de estos canales de todos modos se producirá cierto grado de acidificación.

RESPUESTA 12-20
A. Véase la figura R12-20A.

B. La velocidad de transporte del compuesto A es directamente proporcional a la concentración del compuesto, lo que



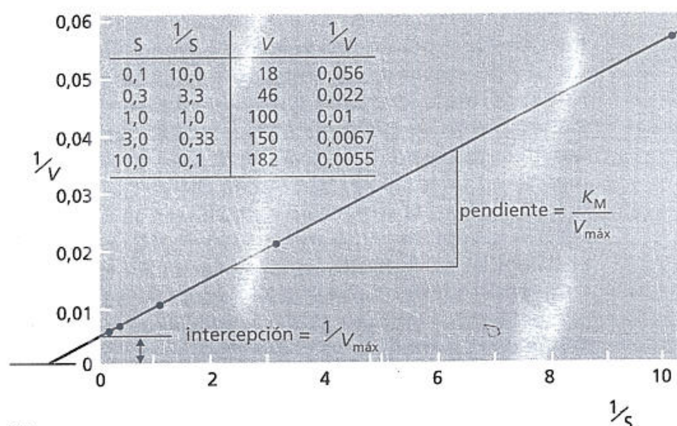


Figura R12-20

indica que el compuesto A puede difundir por sí solo a través de las membranas. Es probable que el compuesto A sea el etanol, dado que es una molécula pequeña y relativamente no polar capaz de difundir fácilmente a través de la bicapa lipídica. Por el contrario, la velocidad de transporte del compuesto B se satura en presencia de altas concentraciones, lo que indica que este compuesto es transferido a través de la membrana por una proteína de transporte. En este caso la velocidad del transporte no puede superar la velocidad máxima a la que funciona la proteína de transporte. Es probable que el compuesto B sea el acetato, dado que es una molécula cargada que no puede atravesar la membrana sin la ayuda de una proteína de transporte de membrana.

C. En el caso del etanol observamos una correlación lineal entre la concentración y la velocidad de transporte. Así, en presencia de una concentración de 0,5 nM la velocidad de transporte será de 10 μmol/min mientras que en presencia de una concentración de 100 nM esa velocidad será de 2 μmol/min.

En el caso del desplazamiento del acetato mediado por una proteína transportadora, la relación entre concentración, S y velocidad de transporte puede describirse mediante la ecuación de Michaelis-Menten, que describe reacciones enzimáticas simples:

$$(1)\ \text{velocidad de transporte} = V_{máx} \times S/[K_M + S]$$

Recuérdese que en el capítulo 3 (véase la pregunta 3-20, p. 116) mencionamos que para determinar los valores de

$V_{máx}$ y K_M se utiliza una argucia para transformar la ecuación de Michaelis-Menten y poder correlacionar los datos en forma de línea recta. Una transformación simple de esta ecuación es la siguiente:

(2) 1/velocidad = (KM/$V_{máx}$) (1/S) + 1/ $V_{máx}$

(es decir, una ecuación del tipo y = ax + b)

El cálculo de 1/velocidad y 1/S para los datos dados y la correlación en un nuevo gráfico como el ilustrado en la figura R12-20B permiten obtener una línea recta. Los valores KM (= 1 mM) y $V_{máx}$ (= 200 μmol/min) se extraen de la intercepción entre la línea y el eje *y* (1/$V_{máx}$) y de su pendiente (K_M/$V_{máx}$). Si se conocen los valores de K_M y $V_{máx}$ es posible calcular la velocidad de transporte para las concentraciones de 0,5 mM y 100 mM de acetato utilizando la ecuación (1). Los resultados son 67 μmol/min y 198 μmol/min, respectivamente.

RESPUESTA 12-21
El potencial de membrana y la elevada concentración extracelular de Na^+ generan una fuerza electroquímica de gran magnitud y determinan la acumulación de un reservorio de iones Na^+ importante, de modo que en el momento en que se abren los receptores de acetilcolina los iones Na^+ son los que ingresan en la célula en mayor cantidad. Los iones Ca^{2+} también ingresarán en la célula, pero en mucha menor cantidad debido a la menor concentración extracelular de Ca^{2+}. (Como se verá en el capítulo 17, la mayor parte del Ca^{2+} que ingresa en el citosol en el momento de la activación muscular proviene de depósitos intracelulares.) La elevada concentración intracelular y la dirección opuesta del potencial de membrana determinan que los iones K^+ ya se encuentren cercanos al equilibrio a través de la membrana. Por este motivo, el movimiento de iones K^+ después de la apertura de un canal catiónico será mínimo o nulo.

RESPUESTA 12-22
La diversidad de canales iónicos regulados por neurotransmisores es un factor positivo para la industria farmacéutica porque sustenta la posibilidad de desarrollar nuevos fármacos específicos para cada tipo de canal. Cada uno de los distintos subtipos de canales iónicos se expresa en un conjunto limitado de neuronas. Este fenómeno en principio favorecería el desarrollo de fármacos que actuarán sobre subtipos específicos en un grupo seleccionado de neuronas y de esa manera afectarán funciones específicas del cerebro.

Capítulo 13

RESPUESTA 13-1
Para mantener la glucólisis en funcionamiento las células necesitan regenerar el NAD^+ a partir del NADH. No hay una manera eficaz de realizar esto sin la fermentación. En ausencia del NAD^+ regenerado, el paso 6 de la glucólisis (la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato a 1,3-bifosfoglicerato [Lámina 13-1, pp. 430-431]) no podría ocurrir y el producto gliceraldehído 3-fosfato se acumularía. Lo mismo sucedería en las células incapaces de elaborar piruvato o etanol: ninguna sería capaz de regenerar el NAD^+ y así la glucólisis se interrumpiría en el mismo paso.

RESPUESTA 13-2
El arseniato en lugar del fosfato se fija en el paso 6 de la glucólisis y forma 1-arseno-3-fosfoglicerato (Fig. R13-2). Dada su sensibilidad a la hidrólisis en el agua, la unión de alta energía se destruye antes de que la molécula que la contiene pueda difundirse y alcanzar la enzima siguiente. El producto de la

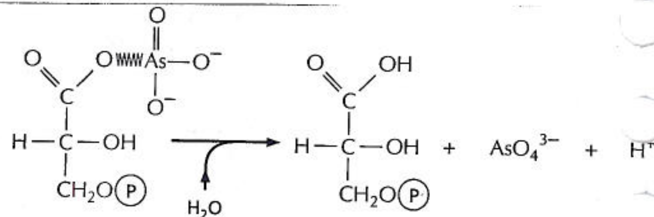


Figura R13-2

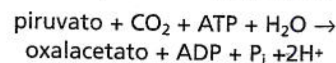
hidrólisis, el 3-fosfoglicerato, es el mismo que se forma normalmente en el paso 7 por la acción de la fosfoglicerato cinasa. Pero como la hidrólisis ocurre de modo no enzimático, la energía liberada por la rotura de la unión de alta energía no puede capturarse para generar ATP. Por lo tanto, en la figura 13-6 la reacción correspondiente a la flecha que apunta hacia abajo todavía ocurre, pero falta la rueda que provee el acoplamiento con la síntesis de ATP. El arseniato desperdicia energía metabólica porque desacopla muchas reacciones de fosfotransferencia por el mismo mecanismo y esta es la causa de que sea tan venenoso.

RESPUESTA 13-3
La oxidación de los ácidos grasos rompe la cadena de carbonos en unidades de dos carbonos (grupos acetilo) que se unen a la CoA. A la inversa, durante la biogénesis los ácidos grasos se sintetizan mediante la unión de los grupos acetilo. En consecuencia, la mayor parte de los ácidos grasos tiene un número par de átomos de carbono.

RESPUESTA 13-4
Dado que la función del ciclo del ácido cítrico es recoger la energía liberada durante la oxidación, tiene sus ventajas separar la reacción global en tantos pasos como sea posible (véase Fig. 13-1). Si se utilizara un compuesto de dos carbonos, la química disponible sería mucho más limitada y resultaría imposible generar tantos intermediarios.

RESPUESTA 13-5
Es cierto que los átomos de oxígeno retornan a la atmósfera como parte del CO_2. Sin embargo, el CO_2 liberado desde las células no contiene los átomos específicos de oxígeno que se consumieron como parte de la reacción de fosforilación oxidativa y se convirtieron en agua. Se puede demostrar esto directamente incubando células vivas en una atmósfera que contenga oxígeno molecular con un isótopo diferente, el ^{18}O, en lugar del isótopo abundante en la naturaleza, el ^{16}O. En este experimento se comprueba que todo el CO_2 liberado desde las células contiene sólo ^{16}O. Por tanto, los átomos de oxígeno en las moléculas de CO_2 liberadas no provienen directamente de la atmósfera sino de moléculas orgánicas que la célula había elaborado primero y luego se oxidaron como combustible (véase Lámina 13-2, pp. 442-443).

RESPUESTA 13-6
El ciclo continúa porque los intermediarios se reponen según la necesidad por medio de reacciones que conducen hacia el ciclo del ácido cítrico (en lugar de alejarse de él). Una de las reacciones más importantes de este tipo es la conversión del piruvato en oxalacetato por la enzima piruvato carboxilasa:



$$\text{piruvato} + CO_2 + ATP + H_2O \rightarrow$$
$$\text{oxalacetato} + ADP + P_i + 2H^+$$

Este es uno de los muchos ejemplos de cómo la vías metabólicas exhiben un equilibrio delicado y operan en conjunto man-

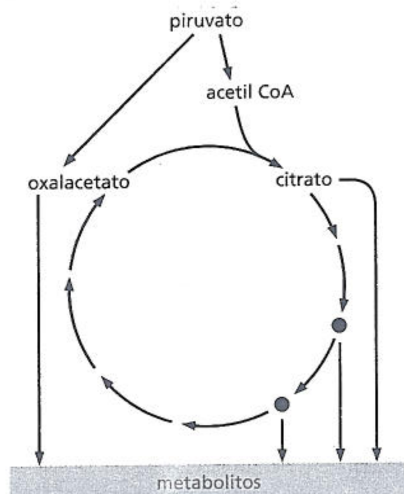


Figura R13-6

tenido las concentraciones adecuadas de todos los metabolitos que la célula necesita (véase Fig. R13-6).

RESPUESTA 13-7
Los átomos de carbono en las moléculas de carbohidrato ya se encuentran parcialmente oxidados, a diferencia de lo que ocurre con todos los átomos de carbono de las cadenas acilo de los ácidos grasos, con excepción del primero. Así, dos átomos de carbono de la glucosa se pierden como CO_2 durante la conversión de piruvato en acetil CoA y sólo cuatro de los seis se recuperan y pueden ingresar en el ciclo del ácido cítrico, donde se captura la mayor parte de la energía. En cambio, todos los carbonos de un ácido graso se convierten en acetil CoA.

RESPUESTA 13-8
A. Falso. Si este fuera el caso, entonces la reacción sería inútil para la célula. No se podría recoger ninguna forma de energía química que fuese útil (p. ej., ATP) en procesos metabólicos. (¡Eso sí, las células estarían cómodas y calentitas!)

B. Falso. Ningún proceso de conversión de la energía puede ser 100% eficaz. Recuérdese que la entropía en el universo siempre tiende a aumentar y en el caso de la mayor parte de las reacciones, esto se logra mediante la liberación de calor.

C. Verdadero. Los átomos de carbono de la glucosa se encuentran en un estado reducido en comparación de los del CO_2, los que están oxidados por completo.

D. Falso. La reacción en efecto produce un poco de agua, pero el agua es tan abundante en la biosfera que no constituye más que una "gota en la cuba".

E. Verdadero. Si se produjera en un solo paso, entonces toda la energía se liberaría de inmediato y sería imposible aprovecharla de un modo eficaz para impulsar otras reacciones, como la síntesis de ATP.

F. Falso. El oxígeno molecular (O_2) se utiliza sólo en el último paso de la reacción.

G. Verdadero. Los vegetales convierten el CO_2 en carbohidratos mediante el aprovechamiento de la energía de la luz en la fotosíntesis. En el proceso, las células vegetales producen O_2 y lo liberan.

H. Verdadero. Las células que proliferan en medios anaeróbicos realizan glucólisis oxidando monosacáridos a piruvato. Las células animales convierten el piruvato en lactato y no se produce nada de CO_2; en cambio, las células de levadura convierten el piruvato en etanol y CO_2. Este gas de CO_2, liberado por las células de levadura durante la fermentación, hace que se eleve la masa del pan y que se gasifiquen la cerveza y el champán.

RESPUESTA 13-9
Darwin exhaló el átomo de carbono que, por lo tanto, debió ser el de una molécula de CO_2. Después de pasar algún tiempo en la atmósfera, la molécula de CO_2 debió haberse introducido en una célula vegetal, donde se "fijó" por medio de la fotosíntesis y se convirtió en una parte de una molécula de carbohidrato. Aunque es cierto que estos primeros pasos tienen que haber sucedido de esta manera, hay muchos caminos diferentes que el átomo de carbono podría haber tomado a partir de allí. Por ejemplo, en la célula vegetal podría haberse degradado el carbohidrato en piruvato y acetil CoA, que podrían haber participado en reacciones biosintéticas y elaborar un aminoácido. El aminoácido podría haberse incorporado en una proteína vegetal, quizás una enzima o una proteína de la pared celular. Usted podría haber comido las deliciosas hojas del vegetal en una ensalada y digerido la proteína en su intestino para de nuevo producir aminoácidos. Después de circular en su torrente sanguíneo, el aminoácido podría haber sido captado por un precursor de un eritrocito y elaborar su propia proteína, como la hemoglobina en cuestión. Por supuesto que si lo deseamos podemos tornar más complicado el marco hipotético de nuestra cadena alimentaria. Por ejemplo, el vegetal podría haber sido comido por un animal que, a su vez, usted podría haber consumido durante el almuerzo. Además, debido a que Darwin murió hace más de 100 años, el átomo de carbono podría haber pasado por este camino varias veces. Pero en cada vuelta habría comenzado de nuevo como gas CO_2 oxidado por completo y se habría incorporado en el mundo viviente luego de su reducción durante la fotosíntesis.

RESPUESTA 13-10
Las células de levadura proliferan mucho mejor en aerobiosis. En condiciones de anaerobiosis no pueden realizar la fosforilación oxidativa y por tanto producen todo su ATP por glucólisis, la cual es menos eficaz. Mientras que por glucólisis una molécula de glucosa rinde una ganancia neta de dos moléculas de ATP, la utilización adicional del ciclo del ácido cítrico y de la fosforilación oxidativa aumenta el rendimiento hasta alrededor de 30 moléculas de ATP.

RESPUESTA 13-11
La cantidad de energía libre almacenada en el enlace fosfato en la creatina fosfato es mayor que la de los enlaces anhidrido en el ATP. Por consiguiente, la hidrólisis de la creatina fosfato puede acoplarse directamente con la producción de ATP.



$$\text{creatina fosfato} + \text{ADP} \rightarrow \text{creatina} + \text{ATP}$$

La $\Delta G°$ para esta reacción es de –3 kcal/mol, lo cual indica que avanza rápidamente hacia la derecha, como se muestra arriba.

RESPUESTA 13-12
La conservación extrema de la glucólisis es la evidencia de que todas las células actuales derivan de una célula fundadora individual como se comenta en el capítulo 1. En consecuencia, las reacciones selectas de la glucólisis habrían evolucionado

una sola vez y luego se habrían heredado conforme las células evolucionaban. La aparición más tardía de la fosforilación oxidativa permitió que reacciones subsiguientes capturaran 15 veces más energía que la posible con la glucólisis sola. Esta eficacia extraordinaria es cercana al límite teórico y por ello prácticamente elimina la oportunidad de mejorías adicionales. Así, la generación de vías alternativas no proveería una ventaja proliferativa obvia que se hubiera seleccionado en la evolución.

RESPUESTA 13-13
Como se comentó en el texto, se producen 30 moléculas de ATP a partir de cada molécula de glucosa que se oxida de acuerdo con la reacción $C_6H_{12}O_6$ (glucosa) + $6O_2 \rightarrow CO_2 + 6H_2O$ + energía. Así, por cada cinco moléculas de ATP producidas se consume una molécula de O_2. Por consiguiente, la célula consume 2×10^8 moléculas de O_2/min, lo cual corresponde al consumo de $3{,}3 \times 10^{-16}$ moles (= $[2 \times 10^8]/[6 \times 10^{23}]$) o $7{,}4 \times 10^{-15}$ litros (= $3{,}3 \times 10^{-16} \times 22{,}4$) por cada minuto. El volumen de la célula es 10^{-15} m^3 [= $(10^{-5})^3$], lo cual equivale a 10^{-12} litros. En consecuencia, la célula consume alrededor de 0,7% (= $100 \times 7 \times 10^{-15}/10^{-12}$) de su volumen de gas O_2 cada minuto o su propio volumen de gas O_2 en 2 horas y 15 minutos.

RESPUESTA 13-14
Todas estas reacciones tienen valores de ΔG negativos y por lo tanto son favorables desde el punto de vista energético (para los diagramas de energía, véase Fig. R13-14).

RESPUESTA 13-15
A. El piruvato se convierte en acetil CoA y el átomo de ^{14}C marcado se libera como gas $^{14}CO_2$ (véase Fig. 13-8B).
B. Si sigue el átomo marcado ^{14}C a través de cada reacción en el ciclo, como se muestra en la lámina 13-2 (pp. 442-443), usted puede comprobar que el ^{14}C añadido se recupera cuantitativamente en el oxalacetato. Pero el análisis también revela que ya no se encuentra en el grupo ceto sino en el grupo metileno del oxalacetato (Fig. R13-15).

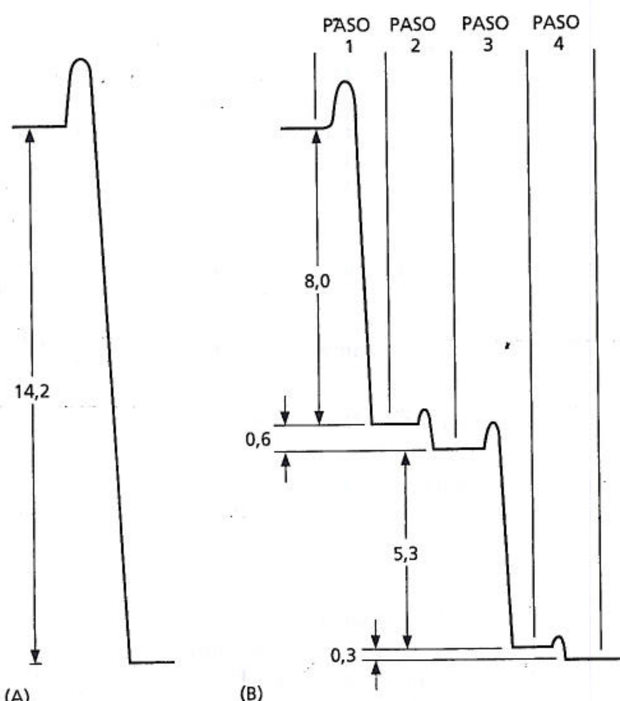


Figura R13-14

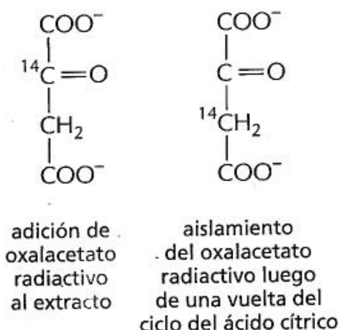


Figura R13-15

RESPUESTA 13-16
En presencia de oxígeno molecular la fosforilación oxidativa convierte la mayor parte del NADH celular en NAD+. Debido a que necesita NADH, la fermentación se inhibe, en gran medida, por la disponibilidad del gas oxígeno.

Capítulo 14

RESPUESTA 14-1 El DNP colapsa –o disminuye a concentraciones muy pequeñas– el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna mediante la permeabilización de las membranas a los protones. Las células continúan oxidando las moléculas de nutrientes para abastecer de electrones a la cadena transportadora, pero los iones H+ bombeados a través de la membrana refluyen dentro de la mitocondria en un ciclo inútil. Su energía no puede aprovecharse para impulsar la síntesis de ATP y, en consecuencia, se libera en forma de calor. Los pacientes a quienes se administraron dosis pequeñas de DNP perdieron peso, porque sus reservas de grasa fueron utilizadas más rápidamente para alimentar la cadena transportadora de electrones, y el proceso completo simplemente "derrocha" energía.
Un mecanismo similar de producción de calor es utilizado por un tejido adiposo constituido por células pardas, muy abundante en el recién nacido y en los animales en hibernación. Estas células tienen mitocondrias que liberan parte de su gradiente de H+ inútilmente a lo largo de la membrana con el único propósito de proveer de calor al organismo. Las células son pardas porque están llenas de mitocondrias que contienen concentraciones elevadas de proteínas pigmentadas, como los citocromos.

RESPUESTA 14-2 La membrana mitocondrial interna es el sitio de la fosforilación oxidativa, y produce la mayor parte del ATP de la célula. Las crestas son porciones de la membrana mitocondrial interna que están plegadas hacia adentro. Las mitocondrias con una alta cantidad de crestas tienen una superficie mayor en su membrana interna y, por lo tanto, una mayor capacidad para realizar la fosforilación oxidativa. El músculo cardíaco consume gran cantidad de energía durante su contracción permanente, mientras que las células cutáneas tienen una demanda energética menor. Por lo tanto, con el aumento de la densidad de las crestas se incrementa la capacidad de producción de ATP de las células del músculo cardíaco. Este es un ejemplo destacable de cómo las células ajustan la abundancia de sus componentes según las necesidades.

RESPUESTA 14-3
A. El DNP colapsa por completo el gradiente electroquímico de protones. Los iones de H+ que son bombeados del otro lado de la membrana refluyen libremente y por esa razón no es posible almacenar energía a través de la membrana.

B. Un gradiente electroquímico consta de dos componentes: un gradiente de concentración y un potencial eléctrico. Si la membrana se hace permeable al K^+ con la nigericina, el K^+ será impulsado dentro de la matriz por el potencial eléctrico de la membrana interna (negativo adentro, positivo afuera). El ingreso de K^+ con carga positiva suprimirá el potencial eléctrico de membrana. Por el contrario, el componente de concentración del gradiente de H^+ (la diferencia de pH) no se verá afectado por la nigericina. En consecuencia, se pierde sólo una parte de la fuerza impulsora que hace que sea energéticamente favorable para los iones H^+ refluir dentro de la matriz.

RESPUESTA 14-4

A. Una turbina que rotara de esa manera invertida es una bomba de agua impulsada eléctricamente, que es análogo a lo que la ATP sintasa realiza cuando emplea la energía de la hidrólisis del ATP para bombear los protones en contra de su gradiente electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna.

B. La ATP sintasa debería detenerse cuando la energía que puede producir a partir del gradiente de protones es exactamente igual a la variación de energía libre que se requiera para producir ATP; en este punto de equilibrio no habrá síntesis neta de ATP ni tampoco consumo neto de ATP.

C. Como la célula consume ATP, la relación ATP/ADP en la matriz cae por debajo del punto de equilibrio recién descripto, y la ATP sintasa utiliza la energía almacenada en la restauración de la relación ATP/ADP original. A la inversa, cuando el gradiente electroquímico de protones cae por debajo del punto de equilibrio, la ATP sintasa utiliza el ATP de la matriz en la restauración del gradiente.

RESPUESTA 14-5 Un par de electrones causa el bombeo de 10 H^+ a través de la membrana cuando son transferidos desde el NADH al O_2 a través de los tres complejos respiratorios. Se necesitan cuatro H^+ para sintetizar cada molécula de ATP: tres para la síntesis de ADP y uno para exportar el ATP al citosol. Por lo tanto, se sintetizan 2,5 moléculas de ATP a partir de cada molécula de NADH.

RESPUESTA 14-6 Se pueden describir cuatro funciones fundamentales de las proteínas en este proceso. Primero, el ambiente químico proporcionado por las cadenas laterales aminoacídicas de las proteínas establece el potencial redox de cada ión de Fe de manera que los electrones pueden transportarse en un orden definido de un componente al próximo, entregan su energía en pequeños pasos y quedan más firmemente unidos a medida que lo hacen. Segundo, las proteínas posicionan a los iones de Fe de modo que los electrones puedan desplazarse eficientemente entre estos. Tercero, las proteínas impiden que los electrones pasen por alto un paso intermedio; es decir, como hemos aprendido para otras enzimas (se describió en el capítulo 4), canalizan el flujo de electrones a lo largo de una vía definida. Cuarto, las proteínas acoplan el desplazamiento de los electrones a favor de su carga de energía con el bombeo de protones a través de la membrana, aprovechan de esa forma la energía que se libera y la almacenan en un gradiente de protones que luego se utiliza en la producción de ATP.

RESPUESTA 14-7 No sería productivo utilizar el mismo transportador en dos etapas. Si la ubiquinona, por ejemplo, pudiera transferir electrones directamente a la citocromo oxidasa, el complejo citocromo b-c_1 sería con frecuencia pasado por alto cuando se reúnen electrones de la NADH deshidrogenasa. Dada la gran diferencia en el potencial redox entre la ubiquinona y la citocromo oxidasa, gran cantidad de energía sería liberada como calor y, por lo tanto, se perdería. La transferencia de electrones directamente entre la NADH deshidrogenasa y el citocromo c permitiría también que el complejo citocromo b-c_1 fuera pasado por alto.

RESPUESTA 14-8

Los protones bombeados a través de la membrana mitocondrial interna dentro del espacio intermembrana se equilibran con el citosol, que funciona como un enorme sumidero de H^+. Tanto en la matriz mitocondrial como en el citosol se cumplen muchas reacciones metabólicas que requieren un pH cercano a la neutralidad. La diferencia de concentración de H^+, pH, que puede alcanzarse entre la matriz mitocondrial y el citosol es, por lo tanto, relativamente pequeña (una unidad de pH). La mayor parte de la energía almacenada en el gradiente electroquímico de protones se origina en cambio por el potencial eléctrico de la membrana (véase Fig. 14-10).

Por el contrario, los cloroplastos tienen un compartimiento más pequeño donde son bombeados los iones H^+. Pueden alcanzarse diferencias de concentración mucho más elevadas (hasta mil veces, es decir, hasta 3 unidades de pH), y la mayoría de la energía almacenada en el gradiente tilacoide se debe a la diferencia de concentración de H^+ entre el espacio tilacoide y la estroma.

RESPUESTA 14-9 NADH y NADPH difieren por la presencia de un único grupo fosfato. Este fosfato confiere al NADPH una forma algo diferente del NADH, que permite que estas moléculas sean reconocidas por enzimas diferentes y, por lo tanto, liberar sus electrones a destinos diferentes. Esta división del trabajo es útil porque el NADPH tiende a estar implicado en reacciones biosintéticas, donde se utilizan electrones de alta energía que producen moléculas biológicas con alto contenido de energía. Por otra parte, el NADH está implicado en reacciones que oxidan moléculas de alimentos con alto contenido de energía y producen ATP. Dentro de la célula la relación de NAD^+ a NADH se mantiene elevada, mientras que la relación de $NADP^+$ a NADPH se mantiene baja. Esto proporciona abundancia de NAD^+ para actuar como agente oxidante y abundancia de NADPH para actuar como agente reductor, según se necesiten para sus funciones especiales en el catabolismo y en el anabolismo, respectivamente.

RESPUESTA 14-10

A. La fotosíntesis produce azúcares, de los cuales el más importante es la sacarosa, que son transportados desde las células fotosintéticas por la savia a las células de la raíz. En éstas, los azúcares se oxidan por glucólisis en el citoplasma y por fosforilación oxidativa en las mitocondrias produciendo ATP, y también se utilizan como moléculas precursoras para muchos otros metabolitos.

B. En las células que contienen cloroplastos, se requieren las mitocondrias, aun durante las horas de luz diurna, para proporcionar a la célula el ATP proveniente de la fosforilación oxidativa. El gliceraldehído 3-fosfato producido por la fotosíntesis en los cloroplastos pasa al citosol y puede utilizarse después como fuente de energía en la producción de ATP en las mitocondrias.

RESPUESTA 14-11 Todas las afirmaciones son correctas.

A. Esta es una condición necesaria. Si esto no fuera cierto, los electrones no podrían ser eliminados del agua y la reacción que escinde las moléculas de agua ($H_2O \rightarrow H_2 + 1/2\ O_2 + e^-$) no se produciría.

B. Esta transferencia permite que la energía del fotón sea aprovechada como energía que puede utilizarse en conversiones químicas.

C. Puede argumentarse que éste es uno de los obstáculos más

importantes que ha debido superar la fotosíntesis durante la evolución: las moléculas de oxígeno parcialmente reducidas, como el radical superóxido O_2^-, son peligrosamente reactivos y atacan y destruyen casi cualquier molécula activa desde el punto de vista biológico. Por consiguiente, estos intermediarios tienen que permanecer estrechamente unidos a los metales en el sitio activo de la enzima hasta que se hayan eliminado los cuatro electrones de las dos moléculas de agua. Esto requiere la captura secuencial de cuatro fotones por el mismo centro de reacción.

RESPUESTA 14-12

A. Verdadero. El NAD^+ y las quinonas son ejemplos de compuestos que no tienen iones metálicos, pero que pueden participar en la transferencia de electrones.

B. Falso. El potencial es causado por los protones (H^+) que son bombeados a través de la membrana desde la matriz al espacio intermembrana. Los electrones permanecen unidos a sus transportadores de electrones en la membrana mitocondrial interna.

C. Verdadero. Ambos componentes se añaden a la fuerza impulsora que hace energéticamente favorable para los H^+ el flujo de regreso dentro de la matriz.

D. Verdadero. Ambos se desplazan con rapidez en el plano de la membrana.

E. Falso. Las plantas no sólo necesitan las mitocondrias para producir el ATP en las células que carecen de cloroplastos, como las células de las raíces, sino que las mitocondrias también generan la mayor parte del ATP citosólico en todas las células vegetales.

F. Verdadero. La función fisiológica de la clorofila le exige absorber luz; el grupo hemo es sólo un compuesto coloreado a partir del que la sangre obtiene su color rojo.

G. Falso. La clorofila absorbe luz y transfiere energía en la forma de un electrón activado, mientras que el hierro del hemo es un simple transportador de electrones.

H. Falso. La mayor parte del peso seco de un árbol proviene del carbono que deriva del CO_2 fijado durante la fotosíntesis.

RESPUESTA 14-13 Se necesitan tres protones. El valor exacto de ΔG para la síntesis del ATP depende de las concentraciones de ATP, ADP y P_i (como se describió en el capítulo 3). Cuanto más alto sea el cociente entre la concentración del ATP y la del ADP, más energía será necesaria para producir un ATP adicional. En consecuencia, el valor inferior de 11 kcal/mol se aplica a las condiciones en las cuales las células consumieron gran cantidad de energía y, por lo tanto, disminuyó el cociente normal ATP/ADP.

RESPUESTA 14-14 Si no hay O_2 disponible, todos los componentes de la cadena mitocondrial de transporte de electrones se acumulan en su forma reducida. Esto sucede porque los electrones provenientes del NADH ingresan en la cadena pero no pueden transferirse al O_2. Por lo tanto, la cadena de transporte de electrones se detiene con todos sus componentes en la forma reducida. Si de pronto se agrega otra vez O_2, los transportadores de electrones en la citocromo oxidasa serán oxidados antes que los de la NADH deshidrogenasa. Esto es cierto porque, después de la adición de O_2, la citocromo oxidasa donará sus electrones directamente al O_2, y de esta manera será oxidada. Con el tiempo, una onda de oxidación progresiva se desplazará en forma retrógrada desde la citocromo oxidasa a través de los componentes de la cadena de transporte de electrones, a medida que cada componente recupere la oportunidad de transferir sus electrones a los componentes anteriores.

RESPUESTA 14-15 Cuando la ubiquinona oxidada es reducida incorpora dos electrones, pero también dos protones, a partir del agua (Fig. 14-19). Durante la oxidación, los protones son liberados. Si la reducción se produce en un lado de la membrana y la oxidación en el otro lado, un protón será bombeado a través de la membrana por cada electrón transportado. Por consiguiente, el transporte de electrones por la ubiquinona contribuye directamente a la generación del gradiente de H^+.

RESPUESTA 14-16 Las bacterias fotosintéticas y las células vegetales utilizan los electrones provenientes de la reacción $2\ H_2O \rightarrow 4\ e^- + 4\ H^+ + O_2$ en la reducción del $NADP^+$ a NADPH, que después se utiliza en la producción de metabolitos útiles. Si los electrones se utilizaran en cambio en la formación de H_2 además de O_2, las células perderían todos los beneficios que provienen de realizar la reacción, porque los electrones no pueden participar en reacciones metabólicamente útiles.

RESPUESTA 14-17

A. El cambio de soluciones crea un gradiente de pH a través de la membrana tilacoide. El flujo de iones H^+ a favor de su potencial electroquímico activa a la ATP sintasa, que transforma el ADP en ATP.

B. No se necesita luz porque el gradiente de H^+ está establecido artificialmente, sin necesidad de la cadena de transporte de electrones impulsada por la luz.

C. Nada. El gradiente de H^+ quedaría en la dirección equivocada; la ATP sintasa no funcionaría.

D. El experimento proporcionó una prueba que avaló el modelo quimiosmótico al demostrar que sólo es suficiente un gradiente de H^+ para impulsar la síntesis de ATP.

RESPUESTA 14-18

A. Cuando las vesículas están expuestas a la luz, los iones H^+ (provenientes del H_2O) bombeados dentro de las vesículas por la bacteriorrodopsina refluyen hacia afuera por acción de la ATP sintasa y dan lugar a la producción de ATP en respuesta a la luz en la solución que rodea a las vesículas.

B. Si las vesículas fueran permeables, no se podría formar el gradiente de H^+ y la ATP sintasa no podría funcionar.

C. Utilizar componentes de organismos sumamente divergentes puede ser un procedimiento experimental poderoso. Como las dos proteínas provienen de fuentes tan distintas, es muy improbable que tengan una interacción funcional directa. Por lo tanto, el experimento sugiere fuertemente que el transporte de electrones y la síntesis de ATP son dos procesos independientes. Por lo tanto, este enfoque es válido.

RESPUESTA 14-19 El potencial redox del $FADH_2$ es demasiado bajo para transferir electrones al complejo de la NADH deshidrogenasa, pero es suficientemente elevado como para transferir electrones a la ubiquinona (Fig. 14-20). Por lo tanto, los electrones del $FADH_2$ pueden ingresar en la cadena de transporte de electrones sólo en este paso (Fig. R14-19). Como el complejo de la NADH deshidrogenasa es sorteado, los H^+ son bombeados en menor número a través de la membrana y se produce menos ATP. Este ejemplo muestra la versatilidad de la cadena de transporte de electrones. Se cree que la capacidad de utilizar fuentes muy diferentes de electrones del medio para alimentar el transporte de electrones ha sido una característica esencial en la primitiva evolución de la vida.

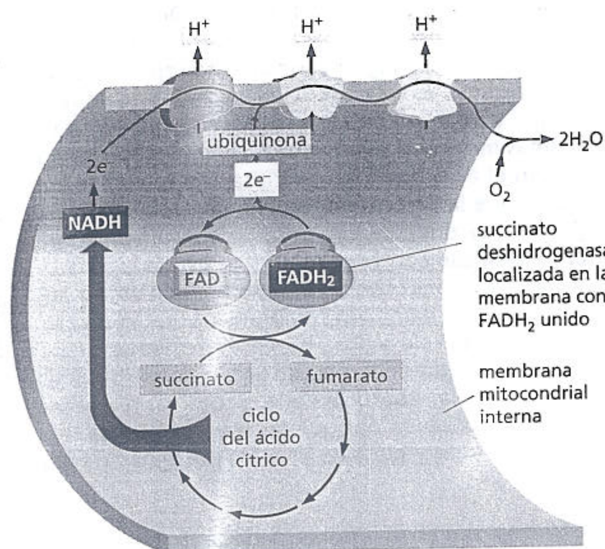


Figura R14-19

RESPUESTA 14-20 Si estas bacterias utilizan un gradiente de protones en la producción de su ATP de una manera análoga a otras bacterias (es decir, menos cantidad de protones en el interior que en el exterior), necesitarían elevar su pH citoplasmático a un valor superior al de su medio ambiente (pH 10). Las células con un pH citoplasmático mayor de 10 no serían viables. Estas bacterias, por lo tanto, deben utilizar gradiente de iones diferentes del H^+, como gradientes de Na^+, en el acoplamiento quimiosmótico entre el transporte de electrones y la ATP sintasa.

RESPUESTA 14-21 Los enunciados A y B son correctos. El enunciado C es incorrecto, porque las reacciones químicas que se llevan a cabo en cada ciclo son completamente diferentes, a pesar de que el efecto neto es el mismo del que se esperaría para una simple inversión de la reacción.

RESPUESTA 14-22 Este experimento sugeriría un modelo en dos etapas para la función de la ATP sintasa. De acuerdo con ello, el flujo de protones a través de la base de la sintasa determina la rotación de la cabeza, lo que a su vez impulsa la síntesis de ATP. En su experimento, los autores tuvieron éxito en desacoplar ambas etapas. Si la rotación mecánica de la cabeza es suficiente para producir ATP en ausencia de cualquier gradiente de protones, la ATP sintasa es una máquina proteica que, en realidad, funciona como una "turbina molecular". Este sería un experimento para entusiasmarse, porque demostraría en forma directa la relación entre el movimiento mecánico y la actividad enzimática. No hay duda de que debería ser publicado y que se transformaría en un "clásico".

RESPUESTA 14-23 Sólo en la situación (E) se observará transferencia de electrones, con reducción del citocromo *c*. Una parte de la cadena de transporte de electrones ha sido reconstituida en esta mezcla, de manera que los electrones pueden fluir en la dirección favorable desde el punto de vista energético desde la ubiquinona reducida al complejo citocromo b-c_1 y al citocromo *c*. Aunque energéticamente favorable, la transferencia no puede producirse de manera espontánea en (A) en ausencia del complejo citocromo b-c_1 para catalizar la reacción. En los otros experimentos tampoco se produce flujo de electrones, esté presente o no el complejo citocromo b-c_1: en los experimentos (B) y (F) la ubiquinona y el citocromo *c* están oxidados; en los experimentos (C) y (G) están reducidos; y en los experimentos (D) y (H) el flujo de electrones es energéticamente desfavorable porque el citocromo *c* reducido tiene una energía libre inferior a la de la ubiquinona oxidada.

Capítulo 15

RESPUESTA 15-1 Si bien la envoltura nuclear forma una membrana continua, tiene regiones especializadas, que contienen proteínas especiales y poseen una apariencia característica. Una de estas regiones especializadas es la membrana nuclear interna. De hecho, las proteínas de membrana pueden difundir entre las membranas nucleares interna y externa en las conexiones formadas alrededor de los poros. Sin embargo, las proteínas que tienen funciones particulares en la membrana interna, por lo general, se encuentran ancladas allí por su interacción con otros componentes, como los cromosomas y la lámina nuclear, una malla proteica que subyace a la membrana nuclear y que la ayuda a mantener la integridad estructural de la envoltura del núcleo.

RESPUESTA 15-2 La expresión génica eucarionte es más complicada que la expresión génica procarionte. En particular, las células procariontes no poseen intrones que interrumpan las secuencias codificantes de sus genes, de modo que el mRNA se puede traducir de inmediato después de su transcripción, sin necesidad de ningún procesamiento posterior (comentado en el capítulo 7). De hecho, en los ribosomas de las células procariontes comienza la traducción de la mayoría de los mRNA antes de terminar la transcripción. Esto podría tener consecuencias desastrosas en las células eucariontes porque la mayoría de los transcriptos de RNA se deben cortar y empalmar antes de que puedan ser traducidos. La envoltura nuclear separa los procesos de transcripción y traducción en el espacio y el tiempo: un transcripto de RNA primario se mantiene en el núcleo hasta que se procesa de manera adecuada y forma un mRNA y recién entonces se le permite abandonar el núcleo de modo que los ribosomas puedan traducirlo.

RESPUESTA 15-3
Una molécula de mRNA se adhiere a la membrana del RE por medio del ribosoma que la traduce. Sin embargo, esta población de ribosomas no es estática; el mRNA se mueve continuamente a lo largo del ribosoma. Los ribosomas que terminaron la traducción se disocian a partir del extremo 3' del mRNA y de la membrana del RE, pero el mRNA en sí permanece unido por otros ribosomas, tomados recientemente de la población total de estos orgánulos y que se encuentran adheridos al extremo 5' del mRNA y se hallan todavía traduciéndolo. De acuerdo con su longitud hay de 10 a 20 ribosomas adheridos a cada molécula de mRNA unida a una membrana.

RESPUESTA 15-4
A. La secuencia señal interna funciona como un anclaje de la membrana, como se muestra en la Figura 15-17. Sin embargo, dado que no existe secuencia de detención de transferencia, el extremo C-terminal de la proteína continúa su translocación en la luz del RE. Por lo tanto, la proteína resultante tiene su dominio N-terminal en el citosol, seguido por un segmento transmembrana único y un dominio C-terminal en la luz del RE (Fig. R15-4A).
B. La secuencia señal N-terminal inicia la translocación del dominio N-terminal de la proteína hasta que una secuencia de detención de transferencia detiene la translocación. Se sintetiza un dominio citosólico hasta que la secuencia de comienzo de transferencia inicia la translocación otra vez. Ahora, la situación semeja a la descrita en A) y el dominio C-terminal de la proteína se transloca dentro de la luz del RE. Por consiguiente, la proteína resultante atraviesa la

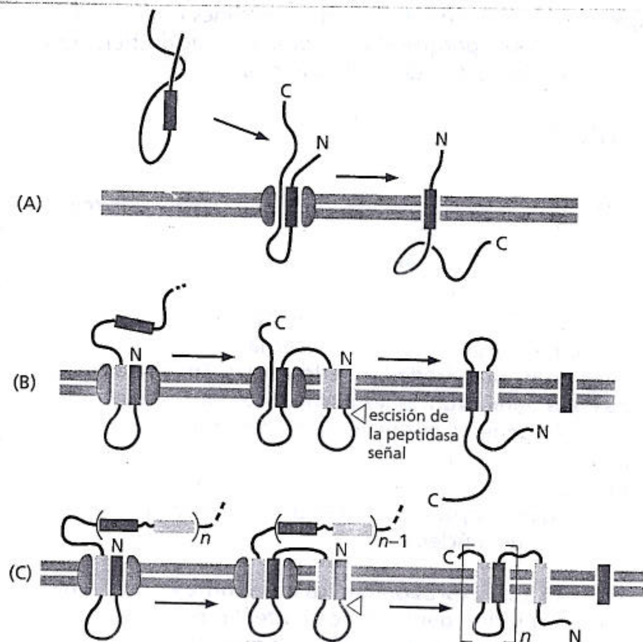


Figura R15-4

membrana dos veces. Sus extremos N-terminal y C-terminal están en la luz del RE y en el citosol se expone un dominio que forma un bucle entre las dos regiones transmembrana (Fig. R15-4B).

C. Se requeriría una secuencia señal escindida, seguida por una secuencia de detención de transferencia, seguida por pares de secuencias de comienzo y de detención de transferencia (Fig. R15-4C).

Estos ejemplos muestran que se pueden lograr topologías proteicas complejas por medio de variaciones y combinaciones simples de los dos mecanismos básicos que se muestran en las figuras 15-16 y 15-17.

RESPUESTA 15-5

A. Las cubiertas de clatrina no pueden ensamblarse en ausencia de adaptinas que ligan la clatrina con la membrana. En concentraciones elevadas de clatrina y en las condiciones iónicas adecuadas las canastas de clatrina se ensamblan en solución, pero son cáscaras vacías, carentes de otras proteínas y no contienen ninguna membrana. Esto muestra que la información para formar las canastas de clatrina se encuentra en las mismas moléculas que, por consiguiente, son capaces de autoensamblarse.

B. Aun sin clatrina las adaptinas se unen a los receptores en la membrana, pero no se puede formar ninguna cubierta de clatrina y, por lo tanto, no se producen las vesículas ni las fosas cubiertas con clatrina.

C. En la membrana se forman fosas cubiertas con clatrina que se invaginan en profundidad, pero no se desprenden para formar vesículas cerradas.

D. Las células procariontes no realizan endocitosis. Por lo tanto, una célula procarionte no contiene ningún receptor con colas citosólicas apropiadas que puedan mediar la unión con las adaptinas. De este modo, no se puede unir ninguna clatrina y no se puede ensamblar ninguna cubierta.

RESPUESTA 15-6 La cadena preformada de oligosacáridos permite un mejor control de calidad porque su fidelidad puede verificarse antes de adicionarla a la proteína; si se produjera un error al agregar azúcares de a uno a la proteína, ésta se debería descartar en su totalidad. Debido a que se utiliza bastante más energía para formar una proteína que una cadena corta de oligosacáridos, ésta representa una estrategia mucho más económica. Asimismo, una vez que se agrega un árbol de azúcares a una proteína, es más difícil para las enzimas modificar sus ramas, en comparación con la modificación en el árbol libre. La dificultad se vuelve aparente a medida que la proteína se mueve hacia la superficie celular: si bien las enzimas de varios compartimentos de la vía secretora modifican constantemente las cadenas de azúcares, estas modificaciones son a menudo incompletas y producen una heterogeneidad considerable de las glucoproteínas que abandonan la célula. Esta heterogeneidad se debe al acceso restringido que tienen las enzimas a los árboles de azúcares adheridos a la superficie de las proteínas. La heterogeneidad explica también por qué las glucoproteínas son más difíciles de estudiar y purificar que las proteínas no glucosiladas.

RESPUESTA 15-7 Se formarían agregados de proteínas en el RE, del mismo modo que lo hacen en la red *trans* del complejo de Golgi. Como la agregación es específica para las proteínas de secreción, las proteínas del RE se deben excluir de los agregados porque podrían llegar a degradarse.

RESPUESTA 15-8 La transferrina que no tiene Fe unido a ella no interactúa con su receptor y circula en el torrente sanguíneo hasta que la toma un ión Fe. Una vez que se le une el hierro, el complejo hierro-transferrina se puede unir al receptor de transferrina sobre la superficie de una célula, que entonces puede endocitarlo. En las condiciones ácidas del endosoma la transferrina libera su hierro, pero permanece unida al receptor, que se recicla hacia la superficie de la célula, donde encuentra el ambiente de pH neutro de la sangre. El pH neutro provoca la liberación del receptor y la transferrina pasa a la circulación donde puede tomar otro ión de Fe para repetir el ciclo. El hierro liberado en el endosoma, como la LDL en la figura 15-33, sigue su camino hacia los lisosomas desde donde se lo transporta hacia el interior del citosol.
El sistema permite que las células capten hierro de manera eficiente incluso si la concentración de hierro en la sangre fuera extremadamente baja. El hierro unido a la transferrina se concentra en la superficie celular por unión con los receptores de transferrina; se vuelve más concentrado en las fosas recubiertas con clatrina, que recolectan los receptores de transferrina. En este sentido la transferrina circula entre la sangre y los endosomas, y entrega el hierro que requieren las células para crecer.

RESPUESTA 15-9

A. Verdadero.

B. Falso. Los secuencias señal que dirigen las proteínas hacia el RE contienen un centro de ocho o más aminoácidos hidrófobos. La secuencia presentada aquí contiene muchos aminoácidos con cadenas laterales hidrófilas, que incluye los aminoácidos con carga His, Arg, Asp y Lys y los aminoácidos hidrófilos no cargados Gln y Ser.

C. Verdadero. De otra manera no podrían acoplarse con la membrana diana adecuada o reclutar un complejo de fusión en un sitio de acoplamiento.

D. Verdadero.

E. Verdadero. Las proteínas lisosómicas se seleccionan en la red *trans* del complejo de Golgi y se empaquetan en vesículas de transporte que se envían a los endosomas tardíos. Si no fueran seleccionadas, ingresarían por defecto en las vesículas de transporte que se desplazan en forma constitutiva hacia la superficie celular.

F. Falso. Los lisosomas digieren también orgánulos internos por autofagocitosis.

G. Falso. Las mitocondrias no participan en el transporte vesicular y, por lo tanto, las glucoproteínas *N*-ligadas, que se ensamblan exclusivamente en el RE, no se pueden transportar a la mitocondria.

RESPUESTA 15-10 Deben contener también una señal de localización nuclear. Las proteínas con señales de exportación nuclear van y vienen del núcleo al citosol. Un ejemplo es la proteína A1, que se une al mRNA en el núcleo y lo guía a través del poro nuclear. Cuando está en el citosol, una señal de localización nuclear le asegura su reimportación de modo que puede participar en la exportación de más mRNA.

RESPUESTA 15-11 El virus de la influenza ingresa en las células por endocitosis y llega a los endosomas donde encuentra un pH ácido que activa su proteína de fusión. La membrana viral se fusiona luego con la membrana del endosoma y libera el genoma viral en el citosol (Fig. R15-11). El NH_3 es una molécula pequeña que penetra las membranas con facilidad. De este modo puede entrar en todos los compartimientos intracelulares, incluidos los endosomas, por difusión. Al ingresar en un compartimento con pH ácido, el NH_3 se une al H^+ y forma NH_4^+, que es un ión cargado y, por lo tanto, no puede cruzar la membrana por difusión. Por este motivo, los iones NH_4^+ se acumulan en compartimientos ácidos y elevan su pH. Cuando se eleva el pH de un endosoma, los virus siguen endocitados, pero debido a que no se puede activar la proteína de fusión, el virus no puede ingresar en el citosol. Recuerde esto la próxima vez que tenga un resfrío y tenga acceso a un establo.

RESPUESTA 15-12

A. El problema es que las vesículas que tienen dos tipos diferentes de v-SNARE en sus membranas pueden acoplarse sobre cualquiera de las dos membranas.

B. La respuesta a este enigma todavía se desconoce, pero podemos predecir que las células deben tener maneras de encender o apagar la capacidad de acoplamiento de las SNARE. Esto es factible a través de otras proteínas que, por ejemplo, se empaquetan en el RE junto con las SNARE en las vesículas de transporte y facilitan las interacciones de la v-SNARE correcta con la d-SNARE en la red *cis* del complejo de Golgi.

RESPUESTA 15-13 La transmisión sináptica involucra la liberación de neurotransmisores por exocitosis. Durante este acontecimiento la membrana de la vesícula sináptica se fusiona con la membrana plasmática de las terminales nerviosas. Para elaborar nuevas vesículas sinápticas la membrana debe recuperarse de la membrana plasmática por endocitosis. Este paso de la endocitosis se bloquea si la dinamina es defectuosa, ya que

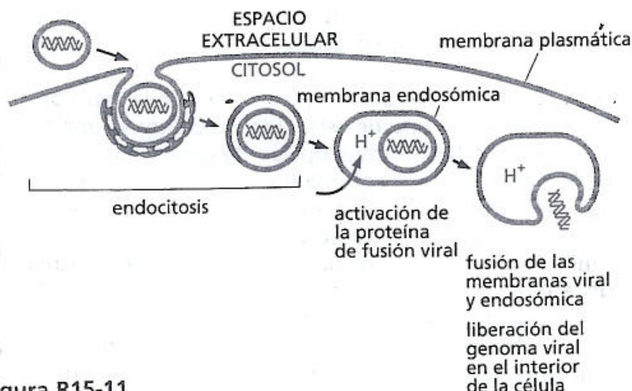


Figura R15-11



De J.H. Koenig and K. Ikeda, *J. Neurosci.* 9:3844–3860, 1989. Con autorización de The Society for Neuroscience.

Figura R15-11

parece que se requiere la proteína para desprender las vesículas endocíticas recubiertas con clatrina. La clave para descifrar la participación de la dinamina provino de las microfotografías electrónicas de las sinapsis en las moscas mutantes (Fig. R15-13). Nótese que existen muchas invaginaciones similares a frascos en la membrana plasmática, que representan fosas recubiertas con clatrina invaginadas profundamente que no se pueden desprender. Los collares visibles alrededor de los cuellos de estas invaginaciones están formados por la dinamina mutante.

RESPUESTA 15-14 La primeras dos oraciones son correctas. La tercera no. Se debería leer: "Debido a que el contenido de la luz del RE o de cualquier otro compartimiento de las vías endocítica o secretora jamás se mezcla con el citosol las proteínas que ingresan en estas vías nunca requerirán ser importadas otra vez". Cuando se desintegra la envoltura nuclear y el RE en la mitosis, es decir, se retrae de la cromatina, sus proteínas de membrana se entremezclan con las proteínas de membrana del RE, pero sus contenidos permanecen separados del citosol por una membrana intacta.

RESPUESTA 15-15 La proteína es translocada hacia el interior del RE. Su señal para el RE se reconoce inmediatamente después de emerger del ribosoma. El ribosoma se une a la membrana del RE y la cadena polipeptídica en crecimiento se transfiere a través del canal de translocación. Por consiguiente, la secuencia de localización nuclear nunca queda expuesta al citosol. No se encontrará entonces con receptores de importación nuclear, por lo que la proteína no ingresará nunca en el núcleo.

RESPUESTA 15-16 1) Las proteínas se importan hacia el núcleo después de haber sido sintetizadas, plegadas y, si corresponde, ensambladas en complejos. Por el contrario, las cadenas polipeptídicas no plegadas son translocadas hacia el RE a medida que los ribosomas las elaboran. Los ribosomas se ensamblan en el núcleo aunque funcionan en el citosol y los complejos enzimáticos que catalizan la transcripción y el corte y empalme alternativo del RNA se ensamblan en el citosol aunque funcionan en el núcleo. De este modo, tanto los ribosomas como estos complejos enzimáticos necesitan transportarse a través de los poros nucleares intactos. 2) Los poros nucleares son puertas que están siempre abiertas a las moléculas pequeñas; en contraste, los canales de translocación de la membrana del RE, por lo general, están cerrados (como lo indica el "tapón" en la figura 15-15) y se abren sólo después de que el ribosoma se adhiere a la membrana y la cadena polipeptídica que se transloca sella el canal desde el citosol. Es importante que la membrana del RE permanezca impermeable a las moléculas pequeñas durante el proceso de translocación, ya que el RE es una fuente fundamental de Ca^{2+} en la célula y su liberación en el citosol se debe controlar estrictamente (comentado en capítulo 16). 3) Las señales de localización nuclear no se eliminan después de la importación de la proteína al núcleo; por el contrario, los péptidos señal para el RE en general sí. Las

señales de localización nuclear se requieren para reimportar proteínas nucleares en forma repetida después de su liberación en el citosol durante la mitosis, cuando se desintegra la envoltura nuclear.

RESPUESTA 15-17 La mezcla transitoria de los contenidos nuclear y citosólico durante la mitosis respalda el concepto de que el interior nuclear y el citosol están en realidad relacionados evolutivamente. De hecho, se puede considerar al núcleo como un subcompartimiento del citosol que se ha rodeado de la envoltura nuclear, con acceso sólo a través de sus poros.

RESPUESTA 15-18 La explicación correcta es que el cambio de un único aminoácido determina que la proteína tenga un plegamiento algo incorrecto de modo que, si bien todavía es activa como inhibidor de las proteasas, las proteínas chaperonas del RE le impiden abandonar el orgánulo. Por lo tanto, se acumula en la luz del RE y, por último, se degrada. Explicaciones alternativas podrían ser que 1) la mutación afecte la estabilidad de la proteína en el torrente sanguíneo de modo que se degrade más rápido en la sangre que la proteína normal o 2) que la mutación inactive la secuencia señal para el RE e impida su entrada. 3) Otra explicación podría ser que la mutación altere la secuencia para crear una señal de retención en el RE, que evite su salida. Se puede distinguir entre estas posibilidades mediante anticuerpos contra la proteína marcados con fluorescencia o expresarla como una fusión con GTP para seguir su transporte en las células (véase Lámina 4-6, p. 167 y Biología experimental, pp. 520-521).

RESPUESTA 15-19 Crítica: "la doctora Outonalimb propone estudiar la biosíntesis de la olvidina, una proteína de interés significativo. Sin embargo, la principal hipótesis sobre la que se basa esta propuesta requiere mayor sustento. En particular resulta cuestionable si la olvidina es en realidad una proteína de secreción, como se propone. Los secuencias señal del RE se encuentran por lo general en el N-terminal. Los secuencias C-terminales hidrófobas estarán expuestos fuera del ribosoma sólo después de que haya casi terminado la síntesis proteica y, por lo tanto, no pueden ser reconocidas por una SRP durante la traducción. Es improbable entonces que la olvidina sea translocada por un mecanismo dependiente de la SRP por lo que puede permanecer en el citosol. La doctora Outonalimb debería tomar en cuenta estas consideraciones cuando envíe su solicitud".

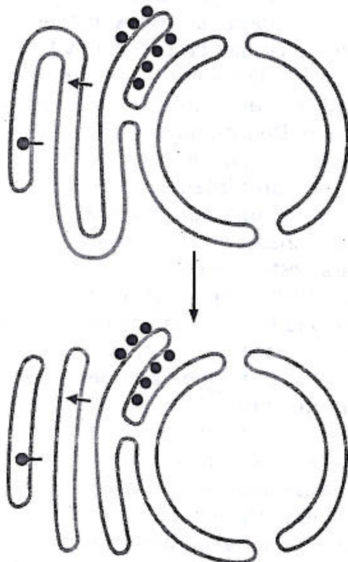


Figura R15-20

RESPUESTA 15-20 El complejo de Golgi puede haber evolucionado a partir de segmentos especializados de la membrana del RE. Estas regiones del RE se podrían haber desprendido y formar un compartimiento nuevo (Fig. R15-20), que aún se comunica con el RE por medio de vesículas de transporte. Para que este compartimiento sea útil, también tienen que haber evolucionado las vesículas de transporte.

RESPUESTA 15-21 Esta es una pregunta del tipo el huevo o la gallina. De hecho, esta situación nunca se presenta en las células actuales, si bien debe haber representado un problema considerable para las primeras células que evolucionaron. Las nuevas membranas de las células se crean por expansión de las existentes y el RE nunca se hizo de novo. Siempre existirá una pieza del RE con canales de translocación para integrar otros nuevos. La herencia no se limita solo a la propagación del genoma; los orgánulos de la célula también deben pasar de generación en generación. De hecho, los canales de translocación del RE se pueden rastrear hacia atrás hasta encontrar canales de estructura relacionada en la membrana plasmática de las células procariontes.

RESPUESTA 15-22

A. Espacio extracelular
B. Citosol
C. Membrana plasmática
D. Cubierta de clatrina
E. Membrana de las fosas recubiertas con clatrina invaginadas profundamente
F. Partículas de carga capturadas
G. Luz de las fosas recubiertas con clatrina invaginadas profundamente

Capítulo 16

RESPUESTA 16-1 La mayoría de las moléculas de señalización paracrinas tienen una vida muy breve después de ser liberadas de una célula señalizadora: son degradadas por enzimas extracelulares o son captadas con rapidez por células diana vecinas. Además, algunas se unen a la matriz extracelular, lo que les impide difundir demasiado lejos.

RESPUESTA 16-2 Los grupos polares son hidrófilos, de manera que el colesterol, con sólo un grupo –OH polar, sería demasiado hidrófobo para ser una hormona eficaz. Como es casi insoluble en agua, no se podría movilizar con facilidad como un mensajero de una célula a otra a través del líquido extracelular.

RESPUESTA 16-3 La proteína podría ser una enzima que produce una gran cantidad de pequeñas moléculas de señalización intracelular, como AMP cíclico o GMP cíclico. O podría ser una enzima que modifica un gran número de proteínas diana intracelulares, p. ej., por fosforilación.

RESPUESTA 16-4 En el caso del receptor de hormonas esteroides, un complejo uno a uno de esteroide y receptor se une al DNA y activa o desactiva la transcripción de genes; por lo tanto, no hay amplificación entre la unión al ligando y la regulación de la transcripción. La amplificación se produce más adelante, porque la transcripción de un gen da origen a muchos mRNA, cada uno de los cuales es traducido en muchas copias de la proteína que codifica (véase capítulo 7). Para los receptores acoplados a canales iónicos, un solo canal iónico dejará pasar miles de iones mientras permanece abierto; esto sirve como paso de amplificación en este tipo de sistema de señalización.

RESPUESTA 16-5 La proteína G mutante estaría casi continuamente activada, porque el GDP se disociaría en forma espontánea, esto permitiría que el GTP se uniera, aun en ausencia de un GPCR activado. Por lo tanto, las consecuencias para la célula serían similares a las causadas por la toxina del cólera, que modifica la subunidad α de G_s, de manera que ésta no puede hidrolizar el GTP y desactivarse. Sin embargo, a diferencia del caso de la toxina del cólera, la proteína G mutante no se mantendría activada en forma permanente: se desactivaría normalmente, pero después se activaría otra vez de manera instantánea al disociarse el GDP y volver a unirse el GTP.

RESPUESTA 16-6 La degradación rápida mantiene bajas las concentraciones intracelulares de AMP cíclico. Cuanto más bajos son los niveles de cAMP, más importante y rápido es el aumento alcanzado ante la activación de la adenilatociclasa, que genera nuevo AMP cíclico. Si usted tiene $100 en el banco y deposita otros $100, usted ha duplicado su capital; si usted tiene sólo $10 para comenzar y deposita $100, ha decuplicado su capital, un aumento proporcional mucho más grande resultante del mismo depósito.

RESPUESTA 16-7 Recuerde que la membrana plasmática representa una superficie relativamente pequeña respecto de las superficies de membrana totales de una célula (véase capítulo 15). El retículo endoplasmático es especialmente abundante y abarca todo el volumen de la célula como una vasta red de tubos y hojas con membrana. Por lo tanto, el Ca^{2+} almacenado en el retículo endoplasmático puede ser liberado por todo el citosol. Esto es importante porque la rápida eliminación de los iones Ca^{2+} del citosol por bombas de Ca^{2+} previene que difunda a una distancia significativa en el citosol.

RESPUESTA 16-8 Cada reacción involucrada en el esquema de amplificación debe ser desactivada para restablecer el nivel de reposo de la vía de señalización. Cada uno de estos interruptores desactivadores es de igual importancia.

RESPUESTA 16-9 Como cada anticuerpo tiene dos sitios de unión al antígeno, puede formar enlaces cruzados con los receptores y hacer que se agrupen en la superficie celular. Es probable que esta agrupación active RTK, que suelen ser activados por dimerización. En los RTK, la agrupación permite que cada dominio cinasa de los receptores fosforilen receptores adyacentes del grupo. La activación de los GPCR es más complicada, porque el ligando debe inducir un cambio conformacional particular; sólo anticuerpos muy especiales remedan ligandos de receptores lo bastante bien para inducir el cambio conformacional que activa un GPCR.

RESPUESTA 16-10 Cuanto más pasos hay en una vía de señalización intracelular, más lugares tiene la célula para regular la vía, amplificar la señal e integrar señales de diferentes vías, y propagarla a lo largo de caminos divergentes (véase Fig. 16-13).

RESPUESTA 16-11

A. Verdadero. Por ejemplo, la acetilcolina disminuye el latido de las células miocárdicas por unión a un GPCR y estimula la contracción del músculo esquelético por unión a un receptor colinérgico diferente, que es un receptor acoplado a canales iónicos.

B. Falso. La acetilcolina tiene una vida breve y ejerce sus efectos localmente. De hecho, las consecuencias de prolongar su período de vida pueden ser desastrosas. Los compuestos que inhiben la enzima acetilcolinesterasa, que en condiciones normales degrada la acetilcolina en una sinapsis neuromuscular, son en extremo tóxicos: p. ej., el gas nervioso sarín, usado en la guerra química, es un inhibidor de la acetilcolinesterasa.

C. Verdadero. Los complejos $\beta\gamma$ libres de nucleótidos pueden activar canales iónicos, y las subunidades α pueden activar enzimas. La forma unida a GDP de las proteínas G triméricas corresponde al estado inactivo.

D. Verdadero. El fosfolípido de inositol que es fragmentado y produce IP_3 contiene tres grupos fosfato, uno de ellos se une al azúcar del lípido diacilglicerol. IP_3 es generado por una reacción de hidrólisis simple (véase Fig. 16-25).

E. Falso. La calmodulina percibe, pero no regula, los niveles intracelulares de Ca^{2+}.

F. Verdadero. Véase figura 16-39.

G. Verdadero. Véase figura 16-30.

RESPUESTA 16-12

1. Usted esperaría un alto nivel basal de actividad de Ras, porque Ras no puede ser desactivada en forma eficiente.
2. Como las moléculas de Ras ya están unidas a GTP, la actividad de Ras en respuesta a una señal extracelular sería mayor que la normal, pero esta actividad podría saturarse cuando todas las moléculas de Ras fueran convertidas a la forma unida a GTP.
3. La respuesta a una señal sería mucho menos rápida, porque el aumento de Ras unida a GTP dependiente de la señal tendría lugar sobre un nivel basal elevado de Ras unida a GTP preexistente (véase Pregunta 16-6).
4. El aumento de actividad de Ras en respuesta a una señal también ser prolongaría respecto de la respuesta de las células normales.

RESPUESTA 16-13

A. Ambos tipos de respuesta pueden alcanzar una gran distancia: las neuronas pueden enviar potenciales de acción por axones muy largos (p. ej., piense en los axones del cuello de una jirafa), y las hormonas son transportadas por el torrente sanguíneo a todo el organismo. Como las neuronas secretan grandes cantidades de neurotransmisores en una sinapsis –un espacio pequeño, bien definido, entre dos células– las concentraciones de estas moléculas de señalización son altas; por lo tanto, los receptores de neurotransmisores necesitan sólo baja afinidad para unirse a los neurotransmisores. En cambio, las hormonas están sumamente diluidas en el torrente sanguíneo, donde suelen circular en concentraciones minúsculas; por lo general, los receptores de hormonas se unen a su hormona con afinidad sumamente alta.

B. Mientras que la señalización neuronal es un asunto privado, en el que una neurona se comunica con un determinado grupo de células diana a través de conexiones sinápticas específicas, la señalización endocrina es un anuncio público, y toda célula diana con receptores apropiados puede responder a la hormona presente en la sangre. La señalización neuronal es muy rápida, y sólo está limitada por la velocidad de propagación del potencial de acción y el funcionamiento de la sinapsis, en tanto que la señalización endocrina es más lenta, y se ve limitada por el flujo sanguíneo y la difusión a distancias más grandes.

RESPUESTA 16-14

A. Hay 100.000 moléculas de X y 10.000 moléculas de Y en la célula (= velocidad de síntesis × tiempo de vida promedio).

B. Después de un segundo, la concentración de X habrá aumentado en 10.000 moléculas. Por lo tanto, la concentración de X un segundo después del aumento de su síntesis es de alrededor de 110.000 moléculas por célula, que corresponde a un incremento del 10% respecto de la concentra-

ción de X antes del refuerzo de su síntesis. La concentración de Y también aumentará en 10.000 moléculas lo que, a diferencia de X, representa una duplicación de su concentración (para simplificar, se puede ignorar la degradación en esta estimación, porque X e Y son relativamente estables durante la estimulación de un segundo).

C. Dado su mayor aumento proporcional, Y es la molécula de señalización preferida. Este cálculo ilustra el principio sorprendente, pero importante, de que el tiempo que demanda activar una señal depende del período de vida de la molécula de señalización.

RESPUESTA 16-15 La información transmitida por una vía de señalización celular está contenida en la *concentración* del mensajero, sea una molécula pequeña o una proteína fosforilada. Por lo tanto, para permitir la detección de un cambio de concentración, el mensajero original debe ser destruido con rapidez. Cuanto más breve es el período de vida del mensajero, más rápido puede responder el sistema a los cambios. La comunicación humana depende de mensajes que son entregados una sola vez y que, por lo general, no son interpretados por su abundancia, sino por su contenido. Por lo tanto, es un error matar a los mensajeros humanos; se los puede utilizar más de una vez.

RESPUESTA 16-16

A. El RTK mutante que carece de su dominio extracelular de unión al ligando es inactivo. No se pueden unir señales extracelulares, y su presencia no tiene consecuencias para la función del RTK normal (Fig. R16-16A).

B. El RTK mutante que carece de su dominio intracelular también es inactivo, pero su presencia bloqueará la señalización a través de los receptores normales. Cuando una molécula señalizadora se une a uno u otro receptor, inducirá su dimerización. Se tienen que reunir dos receptores normales para activarse entre sí por fosforilación. Sin embargo, en presencia de un exceso de receptor mutante, los receptores normales formarán, en general, dímeros mixtos, en los que no se puede activar su dominio intracelular porque su compañero es un mutante y carece de un dominio cinasa (Fig. R16-16B).

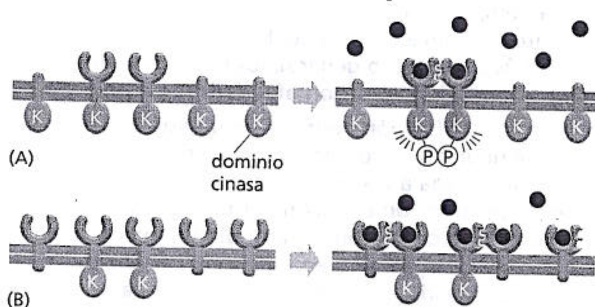


Figura R16-16

RESPUESTA 16-17 La afirmación es correcta. Ante la unión del ligando, las hélices transmembrana de receptores de múltiples segmentos, como los GPCR, se desplazan y se reorganizan entre sí (Fig. R16-17A). Este cambio conformacional es percibido del lado citosólico de la membrana, debido a una modificación de la disposición de los bucles citosólicos. Un solo segmento transmembrana no es suficiente para transmitir directamente una señal a través de la membrana;

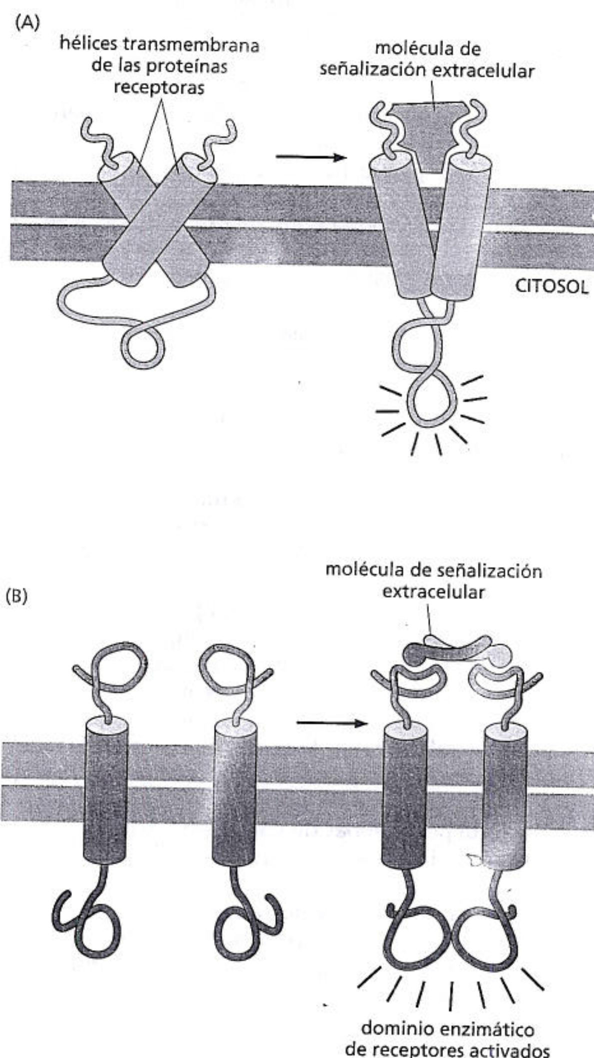


Figura R16-17

no hay ninguna reorganización posible en la membrana al unirse el ligando. Cuando éste se une, los receptores de un solo segmento, como la mayoría de los RTK, tienden a dimerizarse, lo que aproxima sus dominios cinasa intracelulares, de manera que pueden fosforilarse y activarse uno al otro (Fig. R16-17B).

RESPUESTA 16-18 En ambos casos, la activación depende de proteínas que catalizan el intercambio GDP-GTP en la proteína G o en la proteína Ras. Mientras que los GPCR activados realizan esta función directamente para las proteínas G, los receptores acoplados a enzimas ensamblan múltiples proteínas señalizadoras en un complejo de señalización cuando los receptores son activados por fosforilación; una de éstas es una proteína adaptadora que recluta una proteína activadora de Ras que cumple esta función para Ras.

RESPUESTA 16-19 Como la concentración citosólica de Ca^{2+} es tan baja, un ingreso de relativamente pocos iones Ca^{2+} induce grandes cambios de esta concentración. Así, se puede alcanzar una decuplicación del Ca^{2+} citosólico aumentado su concentración en el orden micromolar, lo que requeriría muchos menos iones de los necesarios para modificar de manera significativa la concentración citosólica de un ión más abundante, por ejemplo el Na^{+}. En el músculo, se puede alcanzar un cambio de más de diez veces de la concentración citosólica de Ca^{2+} en

microsegundos liberando Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático, una tarea que sería difícil de lograr si se requirieran cambios del orden milimolar.

RESPUESTA 16-20 En un organismo pluricelular como un animal, es importante que las células sobrevivan sólo en el momento y en el lugar donde se las necesita. Hacer que las células dependan de las señales de otras células puede ser una manera simple de garantizar esto. Por ejemplo, es probable que una célula mal localizada no recibiera las señales de supervivencia que necesita (pues sus vecinas serían inapropiadas) y, por lo tanto, se autodestruiría. Asimismo, esta estrategia puede ayudar a regular la cantidad de células: si el tipo celular A depende de una señal de supervivencia del tipo celular B, la cantidad de células B podría controlar la cantidad de células A al transmitir un número limitado de señales de supervivencia, de manera que sólo cierta cantidad de células podrían sobrevivir. De hecho, hay evidencia de que un mecanismo de este tipo sí funciona para ayudar a regular el número de células, tanto en tejidos en desarrollo como en tejidos adultos (véase Fig. 18-41).

RESPUESTA 16-21 Los canales de Ca^{2+} activados por Ca^{2+} crean un circuito de retroalimentación positiva: cuanto más Ca^{2+} se libera, más canales de Ca^{2+} se abren. Por lo tanto, la señal de Ca^{2+} en el citosol se propaga de manera explosiva por toda la célula muscular, lo que asegura que todos los filamentos de miosina-actina se contraigan casi sincrónicamente.

RESPUESTA 16-22 K2 activa K1. Si K1 está permanentemente activada, se observa una respuesta sin importar el estado de K2. Si se invirtiera el orden, K1 debería activar a K2, lo que no puede suceder porque, en este ejemplo, K2 contiene una mutación desactivadora.

RESPUESTA 16-23

A. Tres ejemplos de vías de señalización extendidas al núcleo son (1) señal extracelular → RTK → proteína adaptadora → proteína activadora de Ras → MAP cinasa cinasa cinasa → MAP cinasa cinasa → MAP cinasa → regulador de la transcripción; (2) señal extracelular → GPCR → proteína G → fosfolipasa C → IP_3 → Ca^{2+} → calmodulina → cinasa CaM → regulador de la transcripción; (3) señal extracelular → GPCR → proteína G → adenilatociclasa → AMP cíclico → PKA → regulador de la transcripción.
B. Dos ejemplos de vías de señalización directas al núcleo son (1) citocina → receptor de citocina → JAK cinasa → STAT; (2) Delta → Notch → cola de Notch fragmentada → transcripción.

RESPUESTA 16-24 Cuando la PI 3-cinasa es activada por un RTK activado, fosforila un fosfolípido de inositol específico de la membrana plasmática. Después, el fosfolípido de inositol fosforilado resultante recluta a la membrana plasmática tanto a Akt como a otra proteincinasa que ayuda a fosforilar y a activar a Akt. Una tercera cinasa que está permanentemente asociada con la membrana también ayuda a activar a Akt (véase Fig. 16-33).

RESPUESTA 16-25 Se considera que los animales y las plantas han evolucionado a la pluricelularidad de manera independiente, y por lo tanto, es esperable que hayan desarrollado algunos mecanismos de señalización distintos para la comunicación intercelular. Por otra parte, se considera que las células animales y vegetales han evolucionado a partir de una célula eucarionte ancestral común, de manera que sería esperable que plantas y animales compartieran algunos mecanismos de señalización intracelular que usaba la célula ancestral común en la respuesta a su ambiente.

Capítulo 17

RESPUESTA 17-1 Las células que migran con rapidez de un lugar a otro, como las de amebas (A) y los espermatozoides (F), en general no necesitan filamentos intermedios en el citoplasma, porque no generan ni soportan grandes fuerzas de tensión. Las células vegetales (G) son empujadas y traccionadas por las fuerzas del viento y del agua, pero resisten a ellas por medio de sus paredes celulares rígidas, más que por medio de su citoesqueleto. Las células epiteliales (B), las células de músculo liso (C) y los axones largos de las células nerviosas (E) son ricas en filamentos intermedios citoplasmáticos, que impiden que se rompan cuando son estiradas o comprimidas por los movimientos de los tejidos circundantes.
Todas las células eucariontes previas tienen por lo menos filamentos intermedios en la lámina nuclear. Las bacterias, como *Escherichia coli* (D), no tienen filamentos de ninguna clase.

RESPUESTA 17-2 La afinidad de dos dímeros de tubulina entre sí es menor (debido a una cantidad más limitada de sitios de interacción) que la observada entre un dímero de tubulina y el extremo de un microtúbulo (donde hay múltiples sitios de interacción posibles, tanto terminoterminales de dímeros de tubulina que se agregan a un protofilamento como laterolaterales de los dímeros de tubulina que interactúan con subunidades de tubulina de protofilamentos adyacentes que forman el corte transversal de tipo anular). Así, para formar un microtúbulo desde cero, se deben juntar suficientes dímeros de tubulina y permanecer unidos entre sí durante el tiempo suficiente para que otras moléculas de tubulina se añadan a ellos. Sólo cuando ya se han ensamblado una serie de dímeros de tubulina, se verá favorecida la unión de la siguiente subunidad. Por lo tanto, la formación de estos "sitios de nucleación" iniciales es rara y no se producirá en forma espontánea con las concentraciones celulares de tubulina.
Los centrosomas contienen anillos de γ-tubulina preensamblados (en los que la subunidades de γ-tubulina se mantienen unidas por interacciones laterolaterales mucho más estrechas que las que puede formar la $\alpha\beta$-tubulina) a los que se pueden unir dímeros de $\alpha\beta$-tubulina. Las condiciones de unión de los dímeros de $\alpha\beta$-tubulina se asemejan a las de agregación al extremo de un microtúbulo ensamblado. Por lo tanto, los anillos de γ-tubulina del centrosoma se pueden considerar como sitios de nucleación permanentemente ensamblados.

RESPUESTA 17-3

A. El microtúbulo está en retracción porque ha perdido su casquete de GTP; es decir, todas las subunidades de tubulina de su extremo se encuentran en su forma unida a GDP. Aun así, se añadirán subunidades de tubulina cargadas con GTP de la solución a este extremo, pero durarán poco, ya sea porque hidrolizan su GTP o porque se desprenden cuando el borde del microtúbulo que las rodea las desensambla. Sin embargo, si se añaden suficientes subunidades cargadas con GTP lo bastante rápido para cubrir la subunidades de tubulina que contienen GDP en el extremo del microtúbulo, se puede formar un nuevo casquete de GTP, lo que favorece el nuevo crecimiento.
B. La velocidad de adición de GTP-tubulina será mayor con concentraciones de tubulina más altas. Por lo tanto, la frecuencia con la que los microtúbulos en retracción cambian al modo de crecimiento se elevará si se aumenta la concen-

tración de tubulina. La consecuencia de esta regulación es que el sistema se autoequilibra: cuanto más microtúbulos se retraen (lo que determina mayor concentración de tubulina libre), más frecuente es que los microtúbulos comiencen a crecer otra vez. Por el contrario, cuanto más microtúbulos crecen, menor es la concentración de tubulina libre, lo que disminuirá la velocidad de agregado de GTP-tubulina; en algún momento, la hidrólisis de GTP equiparará la nueva adición de GTP-tubulina, se destruirá el casquete de GTP y el microtúbulo pasará al modo de retracción.

C. Si sólo hubiera GDP, los microtúbulos continuarían retrayéndose y, finalmente, desaparecerían, porque los dímeros de tubulina con GDP tienen muy baja afinidad entre sí y no se agregarán de manera estable a los microtúbulos.

D. Si hay GTP pero no puede ser hidrolizado, los microtúbulos seguirán creciendo hasta que hayan consumido todas las subunidades de tubulina libre.

RESPUESTA 17-4 Si todos los brazos de dineína fueran igual de activos, no podría haber ningún movimiento relativo significativo de un microtúbulo al otro como se requiere para la incurvación (piense en un círculo de nueve levantadores de pesas, cada uno de los cuales intenta levantar a su vecino del suelo: si todos tuvieran éxito, ¡el grupo levitaría!). Así, se deben activar selectivamente unas pocas moléculas de dineína ciliar de un lado del cilio. A medida que mueven a sus microtúbulos vecinos hacia el extremo del cilio, éste se incurva del lado que contiene las dineínas activadas.

RESPUESTA 17-5 Cualquier proteína fijadora de actina que estabiliza complejos de dos o más monómeros de actina sin bloquear los extremos requeridos para el crecimiento del filamento favorecerá la iniciación de un nuevo filamento (nucleación).

RESPUESTA 17-6 Sólo las moléculas de actina fluorescentes ensambladas en filamentos son visibles, porque las moléculas de actina no polimerizadas difunden con tanta rapidez que provocan un fondo oscuro uniforme. Dado que en su experimento hay tan pocas moléculas de actina marcadas (1:10.000), debe haber, a lo sumo, un monómero de actina marcado por filamento (véase Fig. 17-29). El lamelipodio, en su conjunto, tiene numerosos filamentos de actina, algunos de los cuales se superponen y, por lo tanto, muestran un patrón punteado aleatorio de moléculas de actina, cada una de las cuales marca un filamento diferente.
Esta técnica (denominada "fluorescencia punteada") se puede utilizar para seguir el movimiento de la actina polimerizada en una célula en migración. Si observa este patrón a lo largo del tiempo, advertirá que cada mancha fluorescente retrocede de manera sostenida desde el borde activo hacia el interior de la célula, un movimiento que se produce sin importar que la célula en realidad migre o no. El movimiento retrógrado tiene lugar porque los monómeros de actina se unen a los filamentos por el extremo más y se pierden del extremo menos (donde son despolimerizados) (véase Fig. 17-34B). En efecto, los monómero de actina "se mueven a través" de los filamentos de actina, un fenómeno denominado "de cinta deslizante". Éste se ha demostrado en filamentos de actina aislados, en solución, y también en microtúbulos dinámicos, como los de un huso mitótico.

RESPUESTA 17-7 Las células contienen proteínas fijadoras de actina que forman haces de filamentos de actina unidos por enlaces cruzados (véase Fig. 17-31). Los filamentos que se extienden de los lamelipodios y los filopodios se conectan con firmeza a la red filamentosa de la corteza celular, lo que aporta el anclaje mecánico requerido para que los filamentos bastoniformes en crecimiento deformen la membrana celular.

RESPUESTA 17-8 Aunque, de hecho, las subunidades se mantienen unidas por enlaces no covalentes que son débiles individualmente, son muy numerosos y están distribuidos en una gran cantidad de filamentos. En consecuencia, la fuerza que un ser humano ejerce al levantar un objeto pesado se dispersa por tantas subunidades que no supera su fuerza de interacción. Por analogía, una sola hebra de seda no tiene ni con mucho la resistencia suficiente para sostener a un ser humano, pero una cuerda tejida de estas fibras, sí.

RESPUESTA 17-9 Ambos filamentos están compuestos por subunidades en forma de dímeros proteicos unidos por interacciones dispuestas en espiral. Además, en ambos casos, los dímeros se polimerizan en filamentos a través de sus dominios dispuestos en espiral. Sin embargo, mientras que los dímeros de filamentos intermedios se ensamblan cabeza a cabeza, lo que crea un filamento que no tiene polaridad, todas las moléculas de miosina de la misma mitad del filamento de miosina están orientadas con sus cabezas apuntando en la misma dirección. Esta polaridad es necesaria para que puedan generar una fuerza contráctil en el músculo.

RESPUESTA 17-10

A. Las moléculas de actina sucesivas de un filamento de actina son idénticas en posición y conformación. Después de la unión de una primera proteína (por ejemplo, troponina) al filamento de actina, no habría manera de que una segunda proteína pudiera reconocer el séptimo monómero de un filamento de actina desnudo. Sin embargo, la tropomiosina se une a lo largo del filamento de actina, abarcando con precisión siete monómeros, lo que suministra una "regla" molecular que mide la longitud de siete monómeros de actina. La troponina se localiza por la unión a los extremos regularmente espaciados de las moléculas de tropomiosina.

B. Los iones de calcio influyen en la generación de fuerza del sistema actina-miosina sólo si hay tanto troponina (para unirse a los iones calcio) como tropomiosina (para transmitir la información de que la troponina ha unido calcio al filamento de actina). (i) La troponina no se puede unir a la actina sin tropomiosina. El filamento de actina estaría expuesto de manera permanente a la miosina, y el sistema estaría continuamente activo, sin importar que hubiera iones calcio o no (por lo tanto, una célula muscular estaría contraída de manera constante sin posibilidad de regulación). (ii) La tropomiosina se uniría a la actina y bloquearía por completo la unión de miosina; el sistema estaría permanentemente inactivo, sin que importara la presencia de iones calcio, porque éste no afecta a la tropomiosina. (iii) El sistema se contraería en respuesta a los iones calcio.

RESPUESTA 17-11

A. Verdadero. Se requiere un movimiento hacia el exterior continuo del RE; en ausencia de microtúbulos, el RE colapsa hacia el centro de la célula.

B. Verdadero. Se necesita actina para formar el anillo contráctil que causa la fragmentación en dos células hijas, mientras que el huso mitótico que separa los cromosomas está compuesto por microtúbulos.

C. Verdadero. Ambas extensiones están asociadas con proteínas transmembrana.

D. Falso. Para causar incurvación, el ATP es hidrolizado por las proteínas motoras dineínas que están unidas a los microtúbulos externos del flagelo.

E. Falso. Las células no se podrían dividir sin reorganizar sus filamentos intermedios, pero muchas células con diferenciación terminal y de vida prolongada, como las células nerviosas, tienen filamentos intermedios estables, que no se conoce que se despolimericen.

F. Falso. La velocidad de crecimiento es independiente del tamaño del casquete de GTP. Los extremos más y menos tienen diferentes velocidades de crecimiento porque presentan sitios de unión físicamente distintos para las subunidades de tubulina que ingresan; la velocidad de adición de subunidades de tubulina difiere en los dos extremos.

G. Verdadero. Ambos son buenos ejemplos de cómo la misma membrana puede tener regiones que están sumamente especializadas en una determinada función.

H. Falso. El movimiento de la miosina es activado por su fosforilación o por unión del calcio a la troponina.

RESPUESTA 17-12 El tiempo promedio que le demanda a una molécula pequeña (como el ATP) difundir por una distancia de 10 μm se calcula de la siguiente manera:
$(10^{-3})^2/(2 \times 5 \times 10^{-6}) = 0,1$ segundos
De modo similar, en promedio, una proteína tarda 1 segundo, y una vesícula, 10 segundos en viajar 10 μm. Una vesícula requeriría, en promedio, 10^9 segundos, o más de 30 años, para difundir hasta el extremo de un axón de 10 cm.

RESPUESTA 17-13 (1) Las células animales son mucho más grandes y tienen formas más diversas, además de carecer de una pared celular. Los elementos citoesqueléticos son necesarios para conferir resistencia mecánica y forma, en ausencia de una pared celular. (2) Las células animales, y todas las demás células eucariontes, tienen un núcleo que es modelado y mantenido en el lugar, en la célula, por filamentos intermedios; las láminas nucleares unidas a la membrana nuclear interna sostienen la membrana nuclear y le dan forma, y una red de filamentos intermedios rodean el núcleo y abarcan el citosol. (3) Las células animales se pueden mover por un proceso que exige un cambio de la forma celular. Se requieren filamentos de actina y proteínas motoras miosina para estas actividades. (4) Las células animales tienen un genoma mucho más grande que las bacterias; este genoma está fragmentado en muchos cromosomas. Para la división celular, los cromosomas se deben distribuir con exactitud entre las células hijas, lo que requiere la función de los microtúbulos que forman el huso mitótico. (5) Las células animales tienen orgánulos internos. Su localización celular depende de las proteínas motoras que los desplazan a lo largo de los microtúbulos. Un ejemplo notable es el viaje de larga distancia de las vesículas rodeadas de membrana (orgánulos) a lo largo de microtúbulos de un axón, que puede ser hasta de 1 m (≈ 3 pies) en el caso de las células nerviosas que se extienden desde la médula espinal hasta los pies.

RESPUESTA 17-14 Los extremos de un filamento intermedio son indistinguibles entre sí, porque los filamentos están compuestos por el ensamblaje de tetrámeros simétricos formados por dos dímeros dispuestos en espiral. Por lo tanto, a diferencia de los microtúbulos y los filamentos de actina, los filamentos intermedios no tienen polaridad.

RESPUESTA 17-15 Los filamentos intermedios no tienen polaridad; sus extremos son indistinguibles desde el punto de vista químico. Por lo tanto, sería difícil imaginar cómo una hipotética proteína motora que se uniera a la mitad del filamento podría percibir una dirección definida. Sería igual de probable que una proteína de este tipo se uniera al filamento enfrentando un extremo o el otro.

RESPUESTA 17-16 La catanina rompe los microtúbulos longitudinalmente y en posiciones alejadas de sus casquetes de GTP. Por lo tanto, los fragmentos formados contienen GDP-tubulina en sus extremos expuestos y se despolimerizan con rapidez. Así, la catanina es un medio muy rápido para destruir microtúbulos existentes.

RESPUESTA 17-17 La división celular depende de la capacidad de los microtúbulos para polimerizarse y despolimerizarse. Esto es muy evidente cuando se considera que la formación del huso mitótico requiere la despolimerización previa de otros microtúbulos celulares para liberar la tubulina requerida para formar el huso. Esta reorganización no es posible en las células tratadas con taxol, mientras que en las células tratadas con colchicina, hay bloqueo de la división porque no se puede ensamblar un huso. En un nivel más sutil, pero no menos importante, ambos fármacos bloquean la inestabilidad dinámica de los microtúbulos y, por lo tanto, interfieren con el funcionamiento del huso mitótico, aun si se pudieran ensamblar en forma correcta.

RESPUESTA 17-18 Las proteínas motoras tienen acción unidireccional; la cinesina siempre se desplaza hacia el extremo más de un microtúbulo, y la dineína, hacia el extremo menos. Por lo tanto, si se unen moléculas de cinesina a un vidrio, sólo aquellas con la orientación correcta respecto del microtúbulo que se asienta en ellas se pueden unir a éste y ejercer fuerza para propulsarlo en sentido anterógrado. Como la cinesina se desplaza hacia el extremo más del microtúbulo, éste siempre arrastrará primero el extremo menos sobre el cubreobjetos.

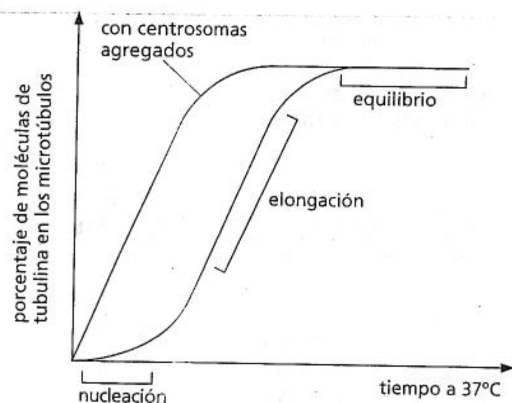
RESPUESTA 17-19

A. La fase A corresponde a la fase de retraso, durante la cual las moléculas de tubulina se ensamblan y forman centros de nucleación (Fig. R17-19A). La nucleación es seguida de un rápido aumento (fase B) hasta un valor meseta a medida que se agregan dímeros de tubulina a los extremos de los microtúbulos que se alargan (Fig. R17-19B). En la fase C, se alcanza el equilibrio, con algunos microtúbulos de la población que crecen mientras que otros se retraen con rapidez (Fig. R17-19C). En este punto, la concentración de tubulina libre es constante, porque la polimerización y la despolimerización están equilibradas (véase también pregunta 17-3, p. 583).

B. El agregado de centrosomas introduce sitios de nucleación que eliminan la fase de retraso A, como muestra la curva roja de la figura R17-19. La velocidad de crecimiento del microtúbulo (es decir, la pendiente de la curva en la fase B de elongación) y el nivel de equilibrio de tubulina libre no se modifican, porque la presencia de centrosomas no incide en las velocidades de polimerización ni despolimerización.

RESPUESTA 17-20 Los extremos del microtúbulo en retracción están visiblemente desgastados, y cada protofilamento parece separarse y ondularse a media que se despolimeriza el extremo. Por lo tanto, la microfotografía sugiere que el casquete de GTP (que se pierde de los microtúbulos en retracción) sostiene los protofilamentos correctamente alineados entre sí, quizá por fortalecer las interacciones laterolaterales entre las subunidades de αβ-tubulina cuando se encuentran en su forma unida a GTP.

RESPUESTA 17-21 La citocalasina interfiere con la formación de los filamentos de actina, y su efecto sobre la célula demuestra la importancia de la actina en la locomoción celular. Este experimento con colchicina muestra que se requieren microtúbulos para conferir polaridad a una célula,



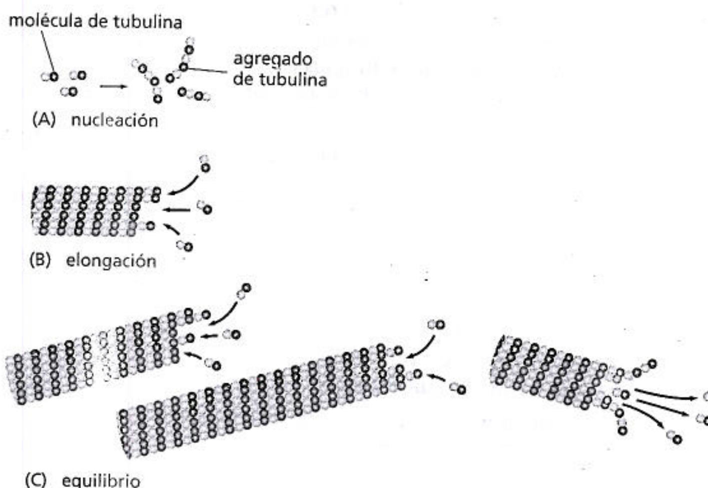


Figura R17-19

lo que después determina qué extremo se convierte en el borde activo (véase Fig. 17-13). En ausencia de microtúbulos, las células presentan, aun así, los movimientos normalmente asociados con el desplazamiento celular, como la extensión de lamelipodios, pero en ausencia de polaridad celular, éstos son ejercicios inútiles, porque se producen de manera indiscriminada en todas las direcciones.

Los anticuerpos se unen estrechamente al antígeno (en este caso, vimentina) contra el que fueron creados (véase lámina 4-3, pp. 144-145). Cuando está unido, un anticuerpo puede interferir con la función del antígeno al impedirle que interactúe de manera apropiada con otros componentes celulares. Por lo tanto, el experimento de inyección de anticuerpos indica que no se requieren filamentos intermedios para mantener la polaridad celular ni para la maquinaria móvil.

RESPUESTA 17-22 (B) o (C) completarían la oración correctamente. El resultado directo del potencial de acción en la membrana plasmática es la liberación de Ca^{2+} hacia el citosol desde el retículo sarcoplasmático; este rápido aumento del Ca^{2+} citosólico desencadena la contracción de las células musculares. Los iones calcio en alta concentración se unen a la troponina que, a su vez, causa el desplazamiento de la tropomiosina lo que expone los sitios de unión a miosina de los filamentos de actina. (A) y (D) serían incorrectas porque el Ca^{2+} no ejerce ningún efecto sobre la separación de la cabeza de miosina de la actina, que es el resultado de la hidrólisis del ATP. Tampoco desempeña ningún papel en mantener la estructura del filamento de miosina.

RESPUESTA 17-23 Sólo (D) es correcta. Con la contracción, los discos Z se acercan, y ni los filamentos de actina ni los de miosina se contraen (véanse Figs. 17-41 y 17-42).

Capítulo 18

RESPUESTA 18-1 Como las células se originan por división de otra célula, esta afirmación es correcta, si se asume que "primera división celular" se refiere a la división de la célula fundadora exitosa a partir de la cual ha derivado toda la vida que conocemos. Es probable que haya habido muchos otros intentos fallidos de iniciar la cadena de la vida.

RESPUESTA 18-2 Las células del pico B contienen el doble de DNA que las del pico A, lo que indica que contienen DNA replicado, mientras que las del pico A contienen DNA no replicado. Por lo tanto, el pico A contiene células que se encuentran en G_1, y las del pico B, células que se encuentran en G_2 y en mitosis. Las células en fase S han comenzado, pero no finalizado, la síntesis de DNA; por lo tanto, tienen diversas cantidades intermedias de DNA y se encuentran en la región entre los dos picos. La mayoría de las células están en G_1, lo que indica que ésta es la fase más larga del ciclo celular (véase Fig. 18-2).

RESPUESTA 18-3 En los organismos pluricelulares, el control de la división celular es sumamente importante. Las células individuales no deben proliferar, a menos que esto sea beneficioso para todo el organismo. El estado G_0 ofrece protección contra la activación aberrante de la división celular, porque el sistema de control del ciclo celular está, en gran medida, desmantelado. Por el contrario, si una célula sólo hiciera una pausa en G_1, todavía contendría todo el sistema de control del ciclo celular, y sería fácil inducirla a dividirse. Asimismo, la célula tendría que volver a tomar la 'decisión' de no dividirse casi continuamente. Para reingresar en el ciclo desde G_0, una célula debe volver a sintetizar todos los componentes que han desaparecido.

RESPUESTA 18-4 La célula replicaría su DNA dañado y, por lo tanto, introduciría mutaciones en las dos células hijas al dividirse. Estas mutaciones podrían aumentar las probabilidades de que la progenie de las células hijas afectadas se convirtieran, con el tiempo, en células cancerosas.

RESPUESTA 18-5 Antes de la inyección, los oocitos de rana deben contener Cdk de M inactiva. Al inyectar citoplasma de la fase M, la pequeña cantidad de Cdk de M activa del citoplasma inyectado activa la Cdk de M inactiva al estimular la fosfatasa activadora (Cdc 25) que elimina los grupos fosfato inhibitorios de la Cdk de M inactiva (véase Fig. 18-17). Por lo tanto, un extracto del segundo oocito, que ahora también se encuentra en fase M, contendrá tanta Cdk de M activa como el extracto citoplasmático original, y así sucesivamente.

RESPUESTA 18-6 El experimento muestra que los cinetocoros no están preasignados a uno u otro polo del huso; los microtúbulos se unen a los cinetocoros que pueden alcanzar. Sin embargo, para que los cromosomas permanezcan unidos a un microtúbulo, se debe ejercer tensión. Por lo general, esta tensión se logra mediante fuerzas de tracción de sentido contrario de los polos opuestos del huso. El requerimiento de esta tensión asegura que si dos cinetocoros hermanos alguna vez se unen al mismo polo del huso, de manera que no se genera

tensión, una o ambas conexiones se perderían, y los microtúbulos del polo opuesto del huso tendrían otra oportunidad de unirse correctamente.

RESPUESTA 18-7 Recuerde que según la figura 18-31 la nueva envoltura nuclear se reensambla en la superficie de los cromosomas. La estrecha aposición de la envoltura y los cromosomas impide que las proteínas citosólicas queden atrapadas entre los cromosomas y la envoltura. Después, se importan selectivamente proteínas nucleares a través de los poros nucleares, lo que causa la expansión del núcleo que mantiene, a la vez, su composición proteica característica.

RESPUESTA 18-8 Las membranas de las vesículas del complejo de Golgi se fusionan formando parte de la membrana plasmática de las dos células hijas. El interior de las vesículas, que están llenas de material de la pared celular, se convierte en la matriz de la nueva pared celular que separa las dos células hijas. Así, las proteínas de la membrana de las vesículas de Golgi se convierten en proteínas de la membrana plasmática. Las partes de las proteínas que estuvieron expuestas a la luz de la vesícula de Golgi terminarán expuestas a la nueva pared celular (Fig. R18-8).

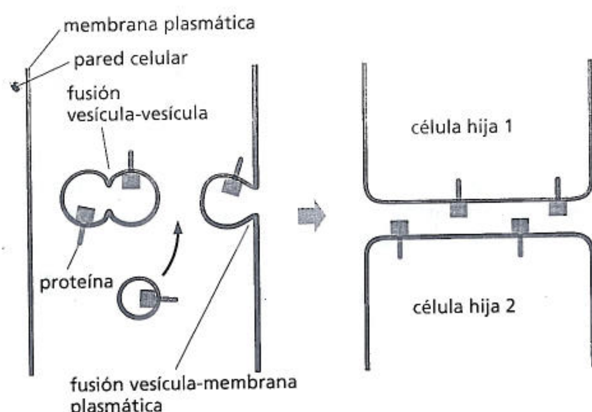


Figura R18-8

RESPUESTA 18-9 En un organismo eucarionte, la información genética que el organismo necesita para sobrevivir y reproducirse se distribuye entre múltiples cromosomas. Por lo tanto, es crucial que cada célula hija reciba una copia de cada cromosoma cuando una célula se divide; si una célula hija recibe muy pocos o demasiados cromosomas, los efectos suelen ser deletéreos o, incluso, letales. La replicación de los cromosomas en la mitosis sólo produce dos copias de cada cromosoma. Si la célula distribuyera de manera aleatoria los cromosomas cuando se divide, sería muy improbable que cada célula hija recibiera precisamente una copia de cada cromosoma. En cambio, el complejo de Golgi se fragmenta en pequeñas vesículas que son todas parecidas, y es muy probable que, por distribución aleatoria, cada célula hija reciba una cantidad aproximadamente igual de ellas.

RESPUESTA 18-10 Como la apoptosis se produce a gran escala en tejidos en desarrollo y adultos, no debe desencadenar reacciones de alarma que suelen estar asociadas con lesión celular. Por ejemplo, la lesión tisular induce la liberación de moléculas de señalización que estimulan la proliferación de las células circundantes, de manera que la herida cicatriza. Asimismo, causa la liberación de señales que pueden provocar una reacción inflamatoria destructiva. Además, la liberación del contenido intracelular podría causar una respuesta inmunitaria contra moléculas que en condiciones normales no son halladas por el sistema inmunitario. Estas reacciones serían contraproducentes si se produjeran en respuesta a la muerte celular masiva observada durante el desarrollo normal.

RESPUESTA 18-11 Como la población celular aumenta en forma exponencial y duplica su peso en cada división celular, el peso del grupo celular después de N divisiones celulares es $2^N \times 10^{-9}$ g. Por lo tanto, 70 kg (70×10^3 g) = $2^N \times 10^{-9}$ g ó $2^N = 7 \times 10^{13}$. Tomar el logaritmo de ambos lados, le permite resolver la ecuación para N. Por lo tanto, $N = \ln (7 \times 10^{13})/\ln 2 = 46$; es decir, demandaría sólo 46 días si las células proliferaran en forma exponencial. Sin embargo, la división celular de los animales está estrictamente controlada y, la mayoría de las células del cuerpo humano dejan de dividirse cuando se tornan muy especializadas. El ejemplo demuestra que la proliferación celular exponencial sólo tiene lugar durante períodos muy breves, aun durante el desarrollo embrionario.

RESPUESTA 18-12 Los óvulos de muchos animales son grandes y contienen reservas de suficientes componentes celulares que duran por muchas divisiones celulares. Las células hijas que se forman durante las primeras divisiones después de la fecundación tienen un tamaño cada vez menor y, por lo tanto, se pueden formar sin necesidad de nueva síntesis de proteínas ni de RNA. Mientras que las células que se dividen normalmente crecerían de manera continua en las fases G_1, G_2 y S, hasta duplicar su tamaño, no hay crecimiento celular en estas primeras divisiones de segmentación, y tanto G_1 como G_2 casi están ausentes. Como G_1 suele ser más larga que G_2, la reducción más sustancial en estas divisiones corresponde a G_1.

RESPUESTA 18-13

A. La radiación provoca daño del DNA, que activa un mecanismo de punto de control (mediado por p53 y p21; véase Fig. 18-16) que detiene el ciclo celular hasta que el DNA ha sido reparado.

B. La célula replicará el DNA dañado, lo que introducirá mutaciones en las células hijas cuando la célula se divida.

C. La célula se podrá dividir normalmente, pero será proclive a mutaciones porque siempre hay cierto daño del DNA como resultado de la irradiación natural causada, por ejemplo, por rayos cósmicos. El mecanismo de punto de control mediado por p53 se requiere, sobre todo, como salvaguarda contra los efectos devastadores del daño acumulado de DNA, pero no para la progresión natural del ciclo celular en células no dañadas.

D. En los seres humanos, la división celular es un proceso continuo que no cesa hasta alcanzar la madurez y es necesaria para la supervivencia. Por ejemplo, las células sanguíneas y las células epiteliales de la piel o del revestimiento intestinal se producen constantemente por división celular que satisfacen las necesidades del organismo; cada día, su organismo produce alrededor de 10^{11} glóbulos rojos nuevos.

RESPUESTA 18-14

A. Sólo las células que estaban en la fase S del ciclo celular (es decir, las células que sintetizaban DNA) durante el período de marcación de 30 minutos contienen algo de DNA radiactivo.

B. Inicialmente, las células mitóticas no contienen DNA radiactivo, porque estas células no estaban sintetizando DNA durante el período de marcación. De hecho, demanda alrededor de dos horas la aparición de las primeras células mitóticas marcadas.

C. El aumento inicial de la curva corresponde a las células que justo estaban terminando la replicación del DNA cuando se

agregó la timidina radiactiva. La curva asciende a medida que más células marcadas ingresan en mitosis; el pico corresponde a las células que recién habían iniciado la fase S cuando se añadió la timidina radiactiva. Después, las células marcadas abandonan la mitosis y son reemplazadas por células mitóticas no marcadas, que todavía no estaban en la fase S durante el período de marcación. Después de 20 horas, la curva comienza a ascender otra vez, porque las células marcadas ingresan en su segunda ronda de mitosis.

D. Este retraso inicial de dos horas antes que aparezca alguna célula mitótica marcada corresponde a la base G_2, que es el período entre el final de la fase S y el comienzo de la mitosis. Las primeras células marcadas observadas en la mitosis fueron las que estaban terminando la fase S (síntesis de DNA) cuando se agregó la timidina radiactiva.

RESPUESTA 18-15 La pérdida de M-ciclina induce la desactivación de Cdk de M. En consecuencia, las proteínas diana de Cdk de M son desfosforiladas por fosfatasas, y las células abandonan la mitosis; desensamblan el huso mitótico, reensamblan la envoltura nuclear, descondensan sus cromosomas, etc. La ciclina M es degradada mediante destrucción dependiente de ubicuitina en los proteasomas, y la activación de Cdk de M induce la activación del APC, que marca la ciclina, pero con un retraso sustancial. Como se analizó en el capítulo 7, la ubicuitinación marca a las proteínas que serán degradadas en los proteasomas.

RESPUESTA 18-16 La ciclina M se acumula de manera gradual cuando es sintetizada en forma sostenida. A medida que se acumula, tenderá a formar complejos con las moléculas Cdk mitóticas presentes. Tras haber alcanzado cierto umbral, se ha formado una cantidad suficiente de Cdk de M, de manera que es activada por las cinasas y fosfatasas apropiadas que la fosforilan y desfosforilan. Una vez activada, la Cdk de M actúa y aumenta la actividad de la fosfatasa activadora; esta retroalimentación positiva induce la activación explosiva de Cdk de M (véase Fig. 18-18). Así, la acumulación de ciclina M actúa como un fusible de calentamiento lento, que finalmente ayuda a desencadenar la autoactivación explosiva de M-Cdk. La destrucción precipitada de la ciclina M termina con la actividad de Cdk de M, y comienza una nueva ronda de acumulación de ciclina M.

RESPUESTA 18-17 El orden es G, C, B, A, D. Estos cinco pasos juntos se denominan mitosis (F). Las fases de la luna no influyen en ningún paso de la mitosis (E). La citocinesis es el último paso de la fase M, que se superpone con la anafase y la telofase. Tanto la mitosis como la citocinesis forman parte de la fase M.

RESPUESTA 18-18 Si la tasa de crecimiento de los microtúbulos es la misma en las células mitóticas y en interfase, su longitud es proporcional a su tiempo de vida. Por ende, la longitud promedio de los microtúbulos en mitosis es de 1 μm (= 20 μm × 15 s/300 s).

RESPUESTA 18-19 Como muestra la figura R18-19, los microtúbulos interpolares superpuestos de polos opuestos del huso tienen sus extremos más apuntando en direcciones opuestas. Las proteínas motoras dirigidas hacia el extremo más unen microtúbulos antiparalelos adyacentes mediante enlaces cruzados y tienden a desplazarlos en la dirección que separará a los dos polos del huso, como ilustra la figura. Las proteínas motoras dirigidas hacia el extremo menos también unen microtúbulos antiparalelos adyacentes mediante enlaces cruzados pero los desplazan en la dirección opuesta, lo que tiende a reunir los polos del huso (no mostrado).

RESPUESTA 18-20 La cromátida hermana queda comprometida cuando un microtúbulo de uno de los polos del huso se une al cinetocoro de la cromátida. La unión del microtúbulo aún es reversible hasta que un segundo microtúbulo del otro polo del huso se une al cinetocoro de una su cromátida hermana asociada, de manera que el cromosoma duplicado ahora soporta tensión mecánica por fuerzas de tracción de ambos polos. La tensión asegura que ambos microtúbulos permanezcan unidos al cromosoma. La posición de la cromátida en la célula en el momento en el que se rompe la envoltura nuclear influirá en la dirección del polo a la queserá traccionada, porque lo más probable es que su cinetocoro se una al polo del huso al que está enfrentado.

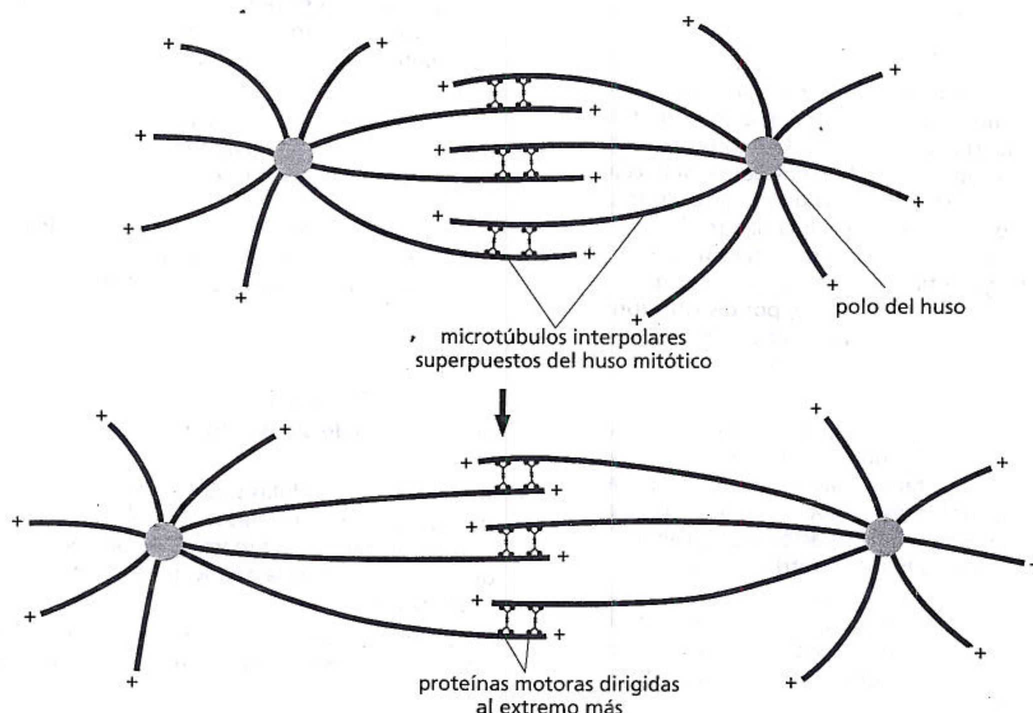


Figura R18-19

RESPUESTA 18-21 Todavía no se sabe con certeza como actúa esto. En principio, dos posibles modelos podrían explicar cómo el cinetocoro puede generar una fuerza hacia los polos sobre su cromosoma durante la anafase A, como se ilustra en la figura R18-21. En (A), las proteínas motoras de los microtúbulos forman parte del cinetocoro y utilizan la energía de hidrólisis del ATP que traccionan al cromosoma a lo largo de sus microtúbulos unidos. La despolimerización del microtúbulo en su extremo cinetocórico tendría lugar como consecuencia de este movimiento. En (B), el movimiento del cromosoma es impulsado por desensamblaje del microtúbulo catalizado por una enzima que usa la energía de hidrólisis del ATP y elimina subunidades de tubulina del extremo unido del microtúbulo. A medida que se disocian subunidades de tubulina, el cinetocoro es obligado a deslizarse hacia el polo lo que mantiene su unión a las paredes del microtúbulo. Es posible que se utilicen ambos mecanismos, pero la evidencia actual favorece el modelo mostrado en (B).

RESPUESTA 18-22 Ambas cromátidas hermanas podrían terminar en la misma célula hija por cualquiera de una serie de razones. (1) Si los microtúbulos o sus conexiones con un cinetocoro se rompieran durante la anafase, ambas cromátidas hermanas podrían ser arrastradas al mismo polo y, por ende, a la misma célula hija. (2) Si los microtúbulos del mismo polo del huso se unieran a ambos cinetocoros, los cromosomas serían arrastrados hacia el mismo polo. (3) Si las cohesinas que unen a las cromátidas hermanas no fueran degradadas, el par de cromátidas podría ser traccionado hacia el mismo polo. (4) Si un cromosoma duplicado nunca se uniera a microtúbulos y quedara fuera del huso, también terminaría en una célula hija.

Sería esperable que algunos de estos errores del proceso mitótico activaran un mecanismo de punto de control que demora el comienzo de la anafase hasta que todos los cromosomas están correctamente unidos a ambos polos del huso. Este mecanismo de 'punto de control de ensamblaje del huso' permitiría corregir la mayoría de los errores de unión de los cromosomas, que es una de las razones por la que son raros errores de este tipo.

Las consecuencias de que ambas cromátidas hermanas queden en la misma célula hija suelen ser funestas. Una célula hija contendría sólo una copia de todos los genes transportados en ese cromosoma, y la otra tendría tres copias. La dosificación génica alterada, que induce los correspondientes cambios de la concentración de mRNA y proteínas producidas, suele ser deletérea para la célula. Además, existe la posibilidad de que la única copia del cromosoma contenga un gen defectuoso con una función crítica, que normalmente sería cumplida por la copia normal del gen del otro cromosoma que, ahora, falta.

RESPUESTA 18-23

A. Verdadero. Los centrosomas se replican durante la interfase antes del comienzo de la fase M.

B. Verdadero. Las cromátidas hermanas se separan por completo sólo al comienzo de la anafase.

C. Falso. Los extremos de los microtúbulos interpolares se superponen y se unen entre sí a través de proteínas (incluidas proteínas motoras) que forman puentes entre los microtúbulos.

D. Falso. Los microtúbulos y sus proteínas motoras no intervienen en la replicación del DNA.

E. Falso. Para que sea una afirmación correcta, se deben intercambiar los términos "centrómero" y "centrosoma".

RESPUESTA 18-24 Los anticuerpos se unen estrechamente al antígeno (en este caso, miosina) contra el que fueron generados. Cuando está unido, un anticuerpo puede interferir con la función del antígeno al impedirle que interactúe en forma apropiada con otros componentes celulares. (A) El desplazamiento de los cromosomas en la anafase depende de los microtúbulos y sus proteínas motoras, no de la actina ni de la miosina. Por lo tanto, la inyección de un anticuerpo antimiosina en una célula no ejercerá ningún efecto sobre el movimiento de los cromosomas durante la anafase. (B) Por el contrario, la citocinesis depende del ensamblaje y la contracción de un anillo de filamentos de actina y miosina, que forma el surco de segmentación que divide a la célula en dos. Por lo tanto, la inyección de anticuerpo antimiosina bloqueará la citocinesis.

RESPUESTA 18-25 La membrana plasmática de la célula de la figura 18-38A que murió por necrosis está rota; por ejemplo, hay una solución de continuidad visible, clara, en la posición correspondiente a la hora 12. Se observa el derrame del contenido de la célula, en su mayor parte restos membranosos y citoesqueléticos, en las adyacencias a través de estas soluciones de continuidad. El citosol se tiñe levemente, porque la mayoría de los componentes celulares solubles se perdieron

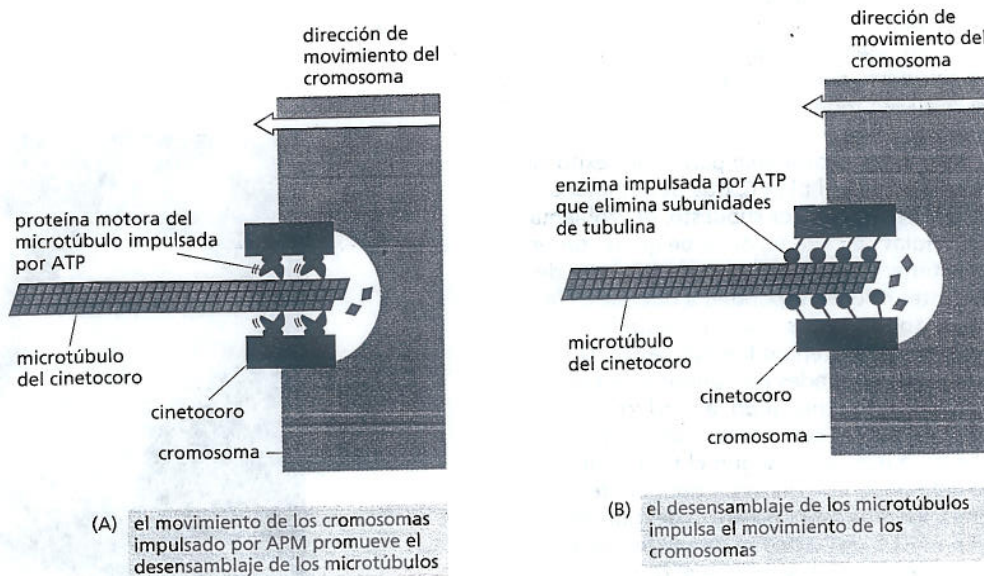


Figura R18-21

antes de fijar la célula. En cambio, la célula que presentó apoptosis de la figura 18-38B está rodeada de una membrana intacta, y su citosol está densamente teñido, lo que indica una concentración normal de componentes celulares. Sin embargo, el interior de la célula muestra diferencias notorias con el de una célula normal. Son particularmente características las grandes "gotas" que extruyen del núcleo, un probable resultado de la degradación de la lámina nuclear. El citosol también contiene muchas vesículas grandes, redondas, rodeadas de membrana, de origen desconocido, que no se observan, en condiciones normales en células sanas. El cuadro visual confirma el concepto de que la necrosis implica lisis celular, mientras que las células que presentan apoptosis permanecen relativamente intactas hasta que son fagocitadas y digeridas por otra célula.

RESPUESTA 18-26

A. Falso. No hay ninguna transición de la fase G_1 a M. En cambio, la afirmación es correcta para la transición de la fase G_1 a S.

B. Verdadero. La apoptosis es un proceso activo realizado por proteasas especiales (caspasas).

C. Verdadero. Se considera que este mecanismo ajusta la cantidad de neuronas a la cantidad de células diana específicas con las que se conectan.

D. Verdadero. ¡Una sorprendente conservación evolutiva!

E. Verdadero. Estos estudios emplean las así llamadas mutaciones condicionales, que inducen la producción de proteínas que suelen ser estables y funcionales a una temperatura, pero inestables o inactivas, a otra. Se pueden hacer crecer células a la temperatura a la que la proteína mutante funciona normalmente y, después, se puede modificar la temperatura para que la proteína pierda su función.

F. Verdadero. Se requiere la asociación de una proteína Cdk con una ciclina para su actividad (de ahí su nombre de cinasa dependiente de ciclinas). Más aun, es necesaria la fosforilación en un sitio específico y la desfosforilación en otros sitios de la proteína Cdk para que el complejo ciclina-Cdk sea activo.

RESPUESTA 18-27 Las células de un animal se deben comportar para el bien de todo el organismo, en mucho mayor grado del que la gente suele actuar para el bien de toda la sociedad. En el contexto de un organismo, el comportamiento no social induciría una pérdida de la organización y cáncer. Muchas de las reglas que las células deben obedecer serían inaceptables en la sociedad humana. Por ejemplo, la mayoría de la gente se mostraría reticente a suicidarse por el bien de la sociedad, pero nuestras células lo hacen todo el tiempo.

RESPUESTA 18-28 El enfoque más probable para tener éxito (si se debe llamar así al objetivo) es el plan C, que determinaría un aumento del número de células. Por supuesto, el problema es que la cantidad de células de cada tejido debe aumentar en forma similar para mantener las proporciones equilibradas del organismo, pero diferentes células responden a diferentes factores de crecimiento. De todos modos, como muestra la figura R18-28, el enfoque, de hecho, ha tenido limitado éxito. Un ratón que produce grandes cantidades de hormona de crecimiento (*izquierda*) –que actúa estimulando la producción de una proteína secretada que actúa como factor de supervivencia, factor de crecimiento o mitógeno, según el tipo celular– alcanza casi el doble del tamaño de un ratón normal (*derecha*). Sin embargo, para lograr esta duplicación del tamaño, hubo sobreproducción masiva de hormona de crecimiento (alrededor de cincuenta veces). Y observe que el ratón ni siquiera alcanzó el tamaño de una rata, para no mencionar el de un perro.

Los otros enfoques tienen problemas conceptuales:

A. Bloquear toda la apoptosis provocaría defectos de desarrollo, porque el desarrollo de las ratas requiere la muerte selectiva de muchas células. Es improbable que se obtuviera un animal viable.

B. Bloquear la función de p53 eliminaría un punto de control importante del ciclo celular que detecta daño del DNA y detiene el ciclo, de manera que la célula pueda reparar el daño; eliminar la p53 aumentaría las tasas de mutación e induciría cáncer. De hecho, los ratones sin p53 suelen desarrollarse con normalidad, pero mueren de cáncer a una edad temprana.

D. Dadas las circunstancias, cambiar de carrera no sería una mala opción.

RESPUESTA 18-29 La liberación limitada según demanda de PDGF en el sitio de una herida desencadena la división celular de células vecinas durante un período limitado, hasta que el PDGF es degradado. Esto es diferente de la liberación continua de PDGF por células mutantes, donde el PDGF se produce de manera descontrolada en altos niveles. Además, las células mutantes que producen PDGF suelen expresar inapropiadamente su propio receptor de PDGF, de forma que pueden estimular su propia proliferación, lo que promueve la aparición de cáncer.

RESPUESTA 18-30 Los tres tipos de células mutantes serían incapaces de dividirse. Las células:

A. ingresarían en mitosis pero no podrían abandonarla,

B. se detendrían de manera permanente en G_1 porque los complejos ciclina-Cdk que actúan en G_1 estarían desactivados,

C. no podrían activar la transcripción de genes requeridos para la división celular, porque los reguladores de la transcripción necesarios estarían siempre inhibidos por la Rb no fosforilada.

RESPUESTA 18-31 En el alcoholismo, las células hepáticas proliferan porque el órgano está sobrecargado y se lesiona por las grandes cantidades de alcohol que debe metabolizar. Esta necesidad de más células hepáticas activa los mecanismos de control que normalmente regulan la proliferación celular. A menos que presente lesiones graves y contenga mucho tejido cicatrizal, el hígado en general se reduce a su tamaño normal después de que el paciente deja de beber en exceso. En cam-



Figura R18-28 Cortesía de Ralph Brinster

bio, en el cáncer de hígado, las mutaciones anulan el control normal de la proliferación celular y, en consecuencia, las células se dividen y continúan haciéndolo en forma descontrolada, lo que suele ser fatal.

Capítulo 19

RESPUESTA 19-1 Aunque cada célula hija termina con una cantidad diploide de DNA después de la primera división meiótica, cada célula tiene, efectivamente, sólo un juego haploide de cromosomas (aunque en dos copias), que representan sólo uno u otro homólogo de cada tipo de cromosoma (aunque habrá habido cierta mezcla durante el entrecruzamiento). Como los cromosomas materno y paterno de un par tendrán diferentes versiones de muchos de los genes, estas células hijas no serán genéticamente idénticas; sin embargo, cada una ha perdido la versión paterna o la materna de cada cromosoma. En cambio, las células somáticas que se dividen por mitosis heredan un juego diploide de cromosomas, y todas las células hijas son idénticas y heredan copias maternas y paternas de los genes. La función de los gametos producidos por la meiosis es combinar y redistribuir las reservas de genes durante la reproducción sexual, y por ende, tener una constitución genética ligeramente diferentes es una ventaja definida para cada uno de ellos. Por otra parte, el papel de las células somáticas es construir un organismo que contenga los mismos genes en todas sus células y que conserve en cada una de ellas la información genética tanto materna como paterna.

RESPUESTA 19-2 Una mujer típica produce menos de 1.000 oocitos maduros durante su vida (12 por año durante alrededor de 40 años); esto corresponde a menos del 10% de los gametos posibles, excluidos los efectos del entrecruzamiento meiótico. Un varón típico produce miles de millones de espermatozoides durante su vida, de manera que, en principio, cada combinación cromosómica posible es ensayada muchas veces.

RESPUESTA 19-3 Para simplificar, considere la situación en la que un padre tienen genes para dos rasgos dominantes M y N, en una de sus dos copias del cromosoma 1 humano. Si estos dos genes se localizaran en los extremos opuestos del cromosoma, y hubiera sólo un fenómeno de entrecruzamiento por cromosoma, como se postuló en la pregunta, la mitad de los hijos expresarían el rasgo M, y la otra mitad, el rasgo N, sin que ninguno se pareciera a su padre en contener ambos rasgos. Esto es muy diferente de la situación real, donde hay múltiples fenómenos de entrecruzamiento por cromosoma, lo que causa que los rasgos M y N se hereden como si estuvieran en cromosomas distintos. Si se construye un tablero de Punnett como el de la figura 19-23, se puede ver que en este último caso, más realista, sería esperable que un cuarto de los hijos de este padre heredaran ambos rasgos, un cuarto heredara sólo el rasgo M, un cuarto heredara sólo el rasgo N y un cuarto no heredara ninguno.

RESPUESTA 19-4 La endogamia tiende a dar origen a individuos que son homocigotos para la mayoría de los genes. Para ver por qué, considere el caso extremo en el que la endogamia adopta la forma de apareamientos hermano-hermana (como entre los faraones del antiguo Egipto): como los padres están estrechamente emparentados, hay una alta probabilidad de que los alelos maternos y paternos heredados por la descendencia sean los mismos. La endogamia durante muchas generaciones da origen a individuos que son todos parecidos y homocigotos para casi todos los genes. Dada la aleatoriedad del mecanismo de la herencia, hay una gran probabilidad de que algunos alelos deletéreos se vuelvan prevalentes en la población de esta manera y que todos los individuos sean menos aptos. En otra población endogámica, distinta, sucederá lo mismo, pero las probabilidades son que se torne prevalente un conjunto diferente de alelos deletéreos. Cuando se aparean individuos de las dos poblaciones endogámicas, su descendencia heredará alelos deletéreos de los genes A, B y C, por ejemplo, de la madre, pero buenos alelos de estos genes del padre; por el contrario, heredarán alelos deletéreos de los genes D, E y F del padre, pero buenos alelos de esos genes de la madre. La mayoría de las mutaciones deletéreas son recesivas. Por lo tanto, la descendencia, como es heterocigota para todos estos genes, no presentará los efectos deletéreos observados en los progenitores.

RESPUESTA 19-5 Si bien alguna de las tres explicaciones podría, en principio, explicar el resultado observado, A y B pueden ser descartados por ser completamente imposibles.

A. No hay ningún precedente de inestabilidad del DNA tan grande para ser detectable en un análisis de SNP de este tipo; en cualquier caso, la hipótesis anticiparía un descenso sostenido de la frecuencia del SNP con la edad, no una caída de la frecuencia sólo a partir de los 50 años.
B. Las poblaciones humanas modifican sus genes sólo con mucha lentitud a lo largo del tiempo (a menos que una migración poblacional masiva determine un ingreso de individuos genéticamente diferentes). Los individuos nacidos hace 50 años serán, en promedio, casi idénticos desde el punto de vista genético a los nacidos hoy en día.
C. Esta hipótesis es correcta. Se ha usado un SNP con estas propiedades para descubrir un gen que parece causar un aumento sustancial de la probabilidad de muerte por problemas cardíacos.

RESPUESTA 19-6 La selección natural sola no es suficiente para eliminar genes letales recesivos de la población. Considere la siguiente línea de razonamiento. Los individuos homocigotos defectuosos pueden surgir sólo como la descendencia de un apareamiento entre dos individuos heterocigotos. Según las leyes de la genética mendeliana, la descendencia de un apareamiento de este tipo tendrá la relación de 1 homocigoto normal:2 heterocigotos:1 homocigoto defectuoso. Por lo tanto, desde el punto de vista estadístico, los individuos heterocigotos siempre serán más numerosos que los homocigotos defectuosos. Y aunque la selección natural elimine eficazmente los genes defectuosos de los individuos homocigotos mediante la muerte, no puede incidir en los genes defectuosos de los individuos heterocigotos porque ellos no expresan el fenotipo. La selección natural mantendrá baja la frecuencia del gen defectuoso en la población, pero en ausencia de cualquier otro efecto, siempre habrá un reservorio de genes defectuosos en los individuos heterocigotos.

Con bajas frecuencias del gen defectuoso, interviene otro factor importante, el azar. La variación aleatoria puede aumentar o disminuir la frecuencia de individuos heterocigotos (y, por ende, la frecuencia del gen defectuoso). Por azar, la descendencia de dos heterocigotos podría ser toda normal, lo que eliminaría el gen defectuoso de ese linaje. Los aumentos de frecuencia del gen deletéreo son contrarrestados por la selección natural; en cambio, las disminuciones no son contrarrestadas y pueden, por azar, determinar la eliminación del gen defectuoso de la población. Por otra parte, continuamente se producen nuevas mutaciones, aunque con una frecuencia baja, lo que crea nuevas copias del alelo recesivo deletéreo. En una población grande, se alcanzará un equilibrio entre esta manera de creación de nuevas copias del alelo y su eliminación mediante la muerte de homocigotos.

RESPUESTA 19-7

A. Verdadero.
B. Verdadero.
C. Falso. Las mutaciones que se producen durante la meiosis pueden ser propagadas, a menos que den origen a gametos no viables.

RESPUESTA 19-8 Dos copias del mismo cromosoma pueden terminar en la misma célula hija si una de las conexiones de los microtúbulos se rompe antes de que se separen las cromátidas hermanas. Alternativamente, los microtúbulos del mismo polo del huso se podrían unir a ambos cinetocoros del cromosoma. Como consecuencia de este error grave y raro, una célula hija contendría sólo una copia de todos los genes de ese cromosoma y la otra, tres copias. La dosificación génica modificada, que induce los correspondientes cambios de la cantidad de mRNA y de proteínas producidos, es muchas veces deletérea para la célula. Si el error se produce durante la meiosis, en el proceso de formación de gametos, se propagará a todas las células del organismo. Por ejemplo, una forma de retraso mental, denominado síndrome de Down, se debe a la presencia de tres copias del cromosoma 21 en todas las células con núcleo del organismo.

RESPUESTA 19-9 La meiosis comienza con la replicación del DNA, que produce una célula tetraploide que contiene cuatro copias de cada cromosoma. Estas cuatro copias deben ser distribuidas por igual, durante las dos divisiones meióticas consecutivas, en cuatro células haploides. Las cromátidas hermanas permanecen apareadas, de manera que (1) las células resultantes de la primera división reciben dos juegos completos de cromosomas, y (2) los cromosomas se puede distribuir otra vez de manera uniforme durante la segunda división meiótica. Si las cromátidas hermanas no permanecieran apareadas, no sería posible distinguir, en la segunda división, qué cromátidas deben estar juntas, lo que dificultaría garantizar que precisamente una copia de cada cromátida migrara a cada célula hija. Por lo tanto, mantener apareadas las dos cromátidas hermanas durante la primera división meiótica es una manera fácil de identificar qué cromátidas se corresponden.
Este principio biológico indica que usted podría considerar sujetar sus medias juntas en pares correspondientes antes de colocarlas en el lavarropas. De esta manera, se podría evitar el proceso engorroso de clasificarlas y los errores aparentemente inevitables que se producen durante ese proceso.

RESPUESTA 19-10

A. Un gen es un segmento de DNA que codifica una proteína o RNA funcional. Un alelo es una forma alternativa de un gen. En la población, a menudo hay varios alelos "normales", cuyas funciones son indistinguibles. Además, puede haber numerosos alelos raros que son defectuosos en distintos grados. De todos modos, un individuo tiene, normalmente, un máximo de dos alelos de un gen.
B. Se dice que un individuo es homocigoto si los dos alelos de un gen son iguales. Se dice que es heterocigoto si los dos alelos de un gen son diferentes.
C. El genotipo es el conjunto específico de alelos que forman el genoma de un individuo; es una enumeración de todas las formas particulares de cada gen del genoma. En la práctica, en organismos estudiados en el laboratorio, se suele especificar como una lista de las diferencias conocidas entre el individuo y el tipo silvestre, que es el estándar que aparece en la naturaleza. El fenotipo es una descripción de las características visibles del individuo. En la práctica, suele ser una lista de las diferencias de las características visibles entre el individuo y el tipo silvestre.
D. Un alelo *A* es dominante (respecto de un segundo alelo *a*) si la presencia de incluso una sola copia de *A* es suficiente para afectar el fenotipo; es decir, si los heterocigotos (con genotipo *Aa*) son diferentes de los homocigotos *aa*. Un alelo *a* es recesivo (respecto de un segundo alelo *A*) si la presencia de una sola copia no determina diferencias fenotípicas, de manera que los individuos *Aa* se ven iguales que los individuos *AA*. Si el fenotipo del individuo heterocigoto difiere del fenotipo de los individuos homocigotos para uno u otro alelo, se dice que los alelos son codominantes.

RESPUESTA 19-11

A. Como la planta de guisantes es diploide, cualquier planta de cepa pura debe llevar dos copias mutantes del mismo gen, que han perdido, ambas, su función.
B. No, a menudo, varios genotipos diferentes pueden producir el mismo fenotipo.
C. Si cada planta lleva una mutación en un gen diferente, las pruebas de complementación lo revelarán (véase Lámina 19-1, p. 674). Cuando se cruza la planta A con la planta B, todas las plantas F_1 producirán sólo guisantes lisos. Y se obtendrá el mismo resultado cuando se cruce la planta B con la planta C, o la planta A con la planta C. Por el contrario, un cruce entre cualquiera de dos plantas de cepa pura que presentan mutaciones de pérdida de función en el mismo gen (aunque estas mutaciones sean diferentes) sólo producirán plantas de guisantes rugosos.

RESPUESTA 19-12

A. Es probable que la mutación sea dominante porque alrededor de la mitad de la progenie nacida de un progenitor afectado –en cada uno de los tres matrimonios con parejas de audición normal– es sorda, y es improbable que todas estas parejas con audición normal fueran portadores heterocigotos de la mutación.
B. La mutación está presente en un autosoma. Si la presentara, en cambio, un cromosoma sexual, estaría afectada sólo la progenie femenina (previsible si la mutación surgiera en un gen del cromosoma X del abuelo) o sólo la progenie masculina (previsible si la mutación surgiera en un gen del cromosoma Y del abuelo). De hecho, la genealogía revela que tanto algunos varones como algunas mujeres han heredado la forma mutante del gen.
C. Suponga que la mutación estuviera presente en una de las dos copias del cromosoma 12 del abuelo. Sería esperable que cada una de estas copias del cromosoma 12 contuviera un patrón diferente de SNP, dado que una de ellas fue heredada de su padre, y la otra, de su madre. Cada una de las copias del cromosoma 12 transmitida a sus nietos habrá atravesado dos meiosis, una meiosis por generación.
Como durante la meiosis se producen dos o tres fenómenos de entrecruzamiento por cromosoma, cada cromosoma heredado por un nieto habrá estado sujeto a alrededor de cinco entrecruzamientos desde que dejó al abuelo y se habrá dividido en seis segmentos. Un patrón idéntico de SNP debe rodear a cualquiera que sea el gen que causa la sordera en cada uno de los cuatro nietos afectados; además, este patrón de SNP debe ser claramente diferente del que rodea al mismo gen en cada uno de los siete nietos normales. Estos SNP formarían un bloque de haplotipo inusualmente largo, que se extiende por alrededor de un sexto de la longitud del cromosoma 12. (Un cuarto del DNA de cada nieto habrá sido heredado del abuelo, en alrededor de 70 segmentos de esta longitud dispersos entre los 46 cromosomas del nieto).

RESPUESTA 19-13 El individuo 1 podría ser heterocigoto (+/–) u homocigoto para el alelo normal (+/+). (Sus dos progenitores deben haber sido heterocigotos porque tuvieron un hijo

mutante homocigoto). El individuo 2 debe ser homocigoto para el alelo recesivo de sordera y el responsable de transmitir el alelo mutante a sus hijos y nietos. Dado que el alelo mutante es raro, lo más probable es que el individuo 4 sea homocigoto para el alelo normal (+/+).

RESPUESTA 19-14 Su amigo está equivocado. (A) Las leyes de Mendel, y el claro conocimiento actual respecto de los mecanismos que las producen, descartan muchas falsas ideas respecto de la herencia humana. Una de ellas es que la probabilidad de heredar rasgos particulares de sus progenitores es diferente entre el primogénito y sus hermanos. (B) La probabilidad de que este tipo de genealogía surja por azar es de un cuarto para cada generación o de uno en 64 para las tres generaciones mostradas. (C) Datos de una muestra ampliada de los miembros de la familia o de más generaciones revelarían con rapidez que el patrón regular observado en esta genealogía particular surgió en forma aleatoria. (D) Un resultado opuesto, si tuviera fuerte significación estadística, indicaría la intervención de algún proceso de selección: p. ej., los padres que tuvieron un primer hijo afectado podrían optar regularmente por un diagnóstico prenatal de embarazos ulteriores e interrupción selectiva de aquellos en los que el feto estuviera afectado. Entonces, nacerían menos segundos hijos con la anormalidad.

RESPUESTA 19-15 Cada portador es un heterocigoto, y el 50% de sus espermatozoides o sus óvulos contendrán el alelo malo. Por lo tanto, cuando se casan dos portadores, hay una probabilidad del 25% de que algún hijo herede el alelo malo de ambos progenitores y, por ende, presente el fenotipo fatal. Como una persona cada 100 es portadora, una pareja cada 10.000 (100 × 100) será una pareja de portadores (si se asume que la gente elige a sus parejas al azar). De no mediar otras diferencias, nacerá un bebé cada 40.000 con el defecto o 25 bebés por año de un total de un millón de bebés nacidos.

RESPUESTA 19-16 Una mutación dominante negativa da origen a un gen mutante que interfiere con la función del producto génico normal, lo que causa un fenotipo de pérdida de función, aun en presencia de una copia normal del gen. Esta capacidad de un solo alelo defectuoso para determinar el fenotipo es la razón por la que un alelo de este tipo es dominante. Una mutación de ganancia de función aumenta la actividad del gen o lo vuelve activo en circunstancias inapropiadas. A menudo, el cambio de actividad tiene una consecuencia fenotípica, que es la causa de que estas mutaciones suelan ser dominantes.

RESPUESTA 19-17 Esta afirmación es, en gran medida, verdad. La diabetes es una de las enfermedades más antiguas descritas por los seres humanos, que se remonta por lo menos a la época de la antigua Grecia. Diabetes provienen de la palabra griega para sifón, que se utilizaba para describir los principales síntomas: "La enfermedad se llamaba diabetes, como si fuera un sifón, porque convertía al cuerpo humano en un tubo para el flujo de humores líquidos" (en otras palabras, los pacientes no tratados tienen sed en forma constante, que es equilibrada por la poliuria). Si no hubiera ninguna enfermedad humana, la función de la insulina no habría llamado la atención de una manera tan exigente. Finalmente, habríamos comprendido su papel. Sin embargo, es difícil utilizar el caso del papel de la enfermedad en dirigir nuestros esfuerzos hacia el conocimiento molecular. Aun hoy, la búsqueda para comprender y aliviar la enfermedad humana es una de las principales fuerzas impulsoras de la investigación biomédica.

RESPUESTA 19-18

A. Como se reseña en la figura R19-18, si se aparean moscas con diferentes genes defectuosos, su progenie tendrá un gen normal en cada locus. En el caso de un apareamiento entre una mosca de ojos color rubí y una mosca de ojos blancos, cada mosca de la progenie heredará una copa funcional del gen blanco de uno de los progenitores y una

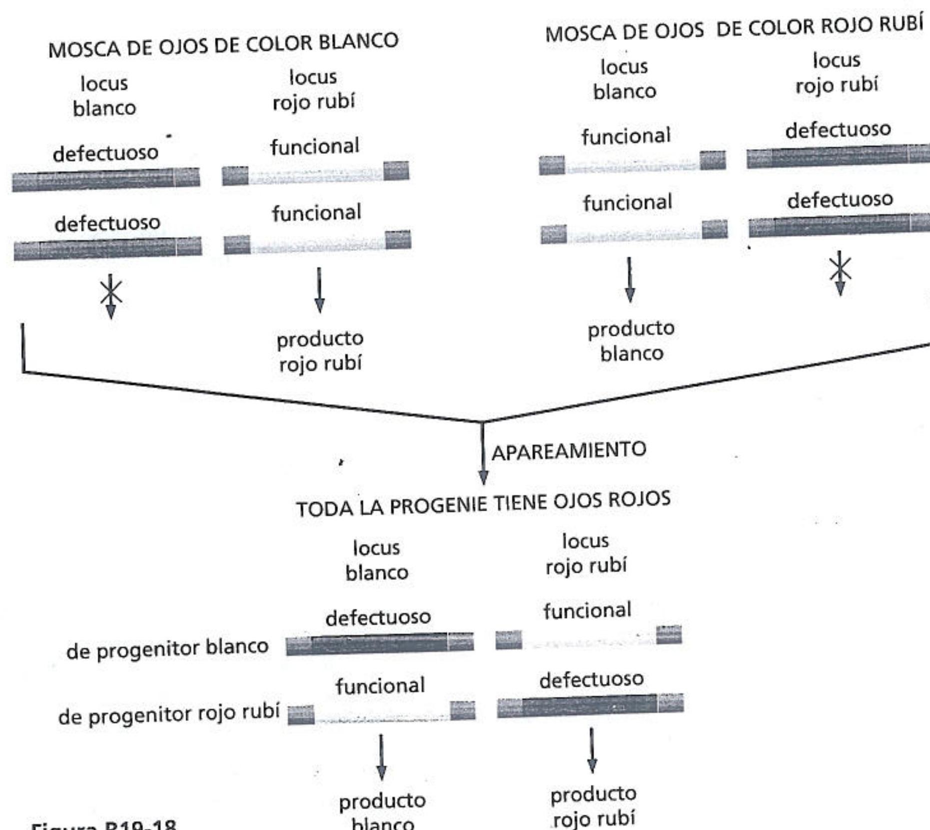


Figura R19-18

copia funcional del gen rubí, del otro progenitor. Como todos los alelos mutantes son recesivos respecto del alelo de tipo silvestre correspondiente, la progenie tendrá el fenotipo silvestre: ojos de color rojo ladrillo.

B. Granate, rubí, bermellón y encarnado se complementan entre sí y con los diversos alelos del gen blanco (es decir, cuando estas moscas mutantes se aparean entre sí, producen moscas con un color de ojos normal); así, cada uno de estos mutantes define un gen separado. Por el contrario, blanco, cereza, coral, albaricoque y ante no se complementan entre sí; por lo tanto, deben ser alelos del mismo gen, que ha sido denominado gen blanco. Así, estos nueve mutantes de color de ojos diferente definen cinco genes distintos.

C. Los alelos diferentes del mismo gen, como los cinco alelos del gen blanco, a menudo tienen distintos fenotipos. Diferentes mutaciones comprometen la función del producto génico en distinto grado, lo que depende de la localización de la mutación. Los alelos que no producen un producto funcional (alelos nulos), aunque resulten de diferentes cambios de secuencia del DNA, no tienen el mismo fenotipo.

RESPUESTA 19-19 Los SNP son diferencias de un solo nucleótido entre individuos para los que hay dos o más variantes de alta frecuencia en la población. En la población humana, los SNP aparecen aproximadamente una vez cada 1.000 nucleótidos de secuencia. Se han identificado muchos, y se los ha mapeado en diversos organismos, incluidos varios millones en el genoma humano. Los SNP, que pueden ser detectados por hibridación de oligonucleótidos, sirven como marcadores físicos cuya localización genómica es conocida. El rastreo de un gen mutante a través de diferentes apareamientos y la correlación de la presencia del gen con la herencia conjunta de determinadas variantes de SNP permiten relacionar la posible localización de un gen con una región cromosómica que puede contener sólo unos pocos genes. Después, se puede investigar una mutación en estos genes candidatos que podría explicar el fenotipo mutante original (véase Fig. 19-32).

RESPUESTA 19-20 Lo que usted conoce de inmediato son todas las diferencias de la secuencia de nucleótidos entre Tim y John. Pero las variantes que son raras en la población humana no son útiles para la mayoría de los análisis de mapeo genético. La investigación de la frecuencia de cada variante en una población humana grande revelará cuál de ellas se detecta en por lo menos el 10% de la población. Éstos son los SNP que resultarán marcadores útiles para futuros análisis de mapeo.

Capítulo 20

RESPUESTA 20-1 La orientación horizontal de los microtúbulos se asocia con la orientación horizontal de las fibras de celulosa depositadas en las paredes celulares. En consecuencia, el crecimiento de las células se producirá en dirección vertical, lo que permitirá aumentar la distancia entre las fibras de celulosa sin estirarlas. De esta manera, el tallo se alargará con rapidez; en un ambiente natural típico esto acelerará el surgimiento del tallo desde la oscuridad a la luz.

RESPUESTA 20-2

A. Cuando tres cadenas de colágeno se unen y forman la hélice triple, la presencia de una molécula defectuosa impedirá el ensamblado, incluso si también existen cadenas de colágeno normales. Por lo tanto, las mutaciones que aparecen en el colágeno son dominantes, o sea que ejercen su efecto deletéreo incluso en presencia de una copia normal del gen.

B. La distinta gravedad de las mutaciones se debe a la polaridad en el proceso de ensamblado. Los monómeros de colágeno se ensamblan y forman la varilla triple helicoidal a partir de sus extremos aminoterminales. En consecuencia, una mutación en una glicina "inicial" sólo permite la formación de varillas cortas, mientras que una mutación más distal permite la formación de varillas más largas y normales.

RESPUESTA 20-3 La gran capacidad de distenderse y ocupar un volumen importante depende de las cargas negativas. Estas cargas atraen una nube de iones positivos, sobre todo Na^+, que por ósmosis estimula el ingreso de gran cantidad de agua, lo que determina las propiedades singulares de los proteoglucanos. En cambio, los polisacáridos carentes de carga, como la celulosa, el almidón y el glucógeno, se compactan con facilidad y forman fibras o gránulos.

RESPUESTA 20-4
En el tejido conectivo son comunes los sitios de contacto focal. Es aquí donde los fibroblastos ejercen fuerzas de tracción sobre la matriz extracelular, y en cultivos celulares donde se observa el desplazamiento celular. Las fuerzas que traccionan de la matriz o que determinan el movimiento de las células se originan en el citoesqueleto de actina. Se presume que en el epitelio maduro los sitios de contacto focales son menos importantes porque la mayoría de las células están fijas y no necesitan desplazarse sobre la lámina basal o traccionar de ella en forma activa.

RESPUESTA 20-5 Suponga que una célula se lesiona de modo que su membrana plasmática se vuelve permeable. Los iones presentes en concentraciones elevadas en el líquido extracelular, como el Na^+ y el Ca^{2+}, escapan al interior de la célula y los metabolitos valiosos salen de ella.
Si la célula siguiera conectada con sus células vecinas normales ellas también sufrirían la lesión. Sin embargo, el influjo de Ca^{2+} en la célula enferma determina que sus uniones comunicantes se cierren de inmediato; de esta manera la célula se aísla de manera eficaz y evita la diseminación de la lesión.

RESPUESTA 20-6 La radiación ionizante (de alta energía) destruye la materia, desplaza a los electrones de sus órbitas y rompe las uniones químicas. En particular esta energía produce escisiones y otros daños en el DNA y, en consecuencia, determina que las células detengan sus ciclos (véase capítulo 18). Si la lesión es tan grave que no puede repararse, las células quedan detenidas para siempre y sufren apoptosis, o sea, activan un programa suicida.

RESPUESTA 20-7 Las células pertenecientes al epitelio del intestino están expuestas a un medio muy hostil que contiene enzimas digestivas y muchas otras sustancias que se modifican en forma notable de un día a otro de acuerdo con los alimentos ingeridos. Las células epiteliales también son una primera línea de defensa contra compuestos y mutágenos potencialmente peligrosos que están en todos los ambientes. El recambio rápido protege al organismo de las consecuencias nocivas porque elimina las células dañadas y enfermas. Si una célula epitelial comienza a dividirse en forma inapropiada como consecuencia de una mutación, por ejemplo, esta célula y su progenie no deseada serán eliminadas por el extremo de la vellosidad por descamación natural: aunque estas mutaciones se producen con frecuencia, rara vez originan cáncer.
Por el contrario, las neuronas viven en un ambiente muy protegido, aislado del mundo exterior. Su función depende de un sistema complejo de conexiones con otras neuronas, un sistema creado durante el desarrollo que no es fácil de reconstruir si la neurona muere.

RESPUESTA 20-8 Cada división celular produce una célula adicional; de esta manera, si las células nunca se perdieran ni se eliminaran del organismo, la cantidad de células sería igual a la cantidad de divisiones más uno. El número de divisiones es 1.000 veces mayor que la cantidad de células porque durante toda la vida se eliminan y reemplazan 1.000 células por cada célula que se conserva en el organismo.

RESPUESTA 20-9

A. Falso. Las uniones comunicantes no están conectadas con el citoesqueleto; su función consiste en permitir la comunicación intercelular lo que posibilita el pasaje de moléculas pequeñas de una célula a otra.
B. Verdadero. Cuando la hoja se marchita, la presión de turgencia en la célula vegetal disminuye y en consecuencia las paredes vegetales, que tienen gran resistencia a la tensión pero no a la compresión (como una cubierta de goma), no proporcionan rigidez.
C. Falso. Los proteoglucanos pueden soportar fuerzas compresivas de gran magnitud pero no proporcionan una estructura rígida. Su propiedad de ocupar espacio se debe a su tendencia a la absorción de grandes cantidades de agua.
D. Verdadero.
E. Verdadero.
F. Verdadero. Las células madre controlan los genes que aseguran que sus células hijas posean la diferenciación apropiada.

RESPUESTA 20-10 Las moléculas citosólicas pequeñas, como el ácido glutámico, el AMP cíclico y los iones de Ca^{2+}, atraviesan las uniones comunicantes y los plasmodesmos con facilidad, mientras que las macromoléculas citosólicas, como el mRNA y las proteínas G, no pueden atravesarlos. Los fosfolípidos de la membrana plasmática difunden a través de los plasmodesmos en el plano de la membrana porque las membranas plasmáticas de las células adyacentes se continúan a través de estas uniones. Este tráfico no es posible a través de las uniones comunicantes porque las membranas de las células conectadas por estas uniones permanecen separadas.

RESPUESTA 20-11 Los vegetales están expuestos a cambios muy grandes del ambiente que con frecuencia se asocian con fluctuaciones importantes en las propiedades osmóticas del medio que los rodea. Una red de filamentos intermedios, como la que aparece en las células animales, no sería capaz de proporcionar un soporte osmótico adecuado para estas células: los escasos puntos de inserción similares a remaches no evitarían que la membrana estallara en respuesta a las elevadas presiones osmóticas generadas desde el interior de la célula.

RESPUESTA 20-12 En realidad, los potenciales de acción pueden transmitirse de una célula a otra a través de las uniones comunicantes. De hecho, las células musculares cardíacas están conectadas de esta manera, lo que asegura que se contraigan en forma sincrónica cuando reciben un estímulo. No obstante, este mecanismo de transmisión de la señal de una célula a otra es bastante limitado. Como se explicó en el capítulo 12, las sinapsis son mucho más sofisticadas y permiten la modulación y la integración de las señales con otras señales recibidas por la célula. Estas uniones comunicantes son como simples soldaduras entre componentes eléctricos, mientras que las sinapsis son dispositivos de relevo complejos que permiten que los sistemas de neuronas realicen cómputos más complejos.

RESPUESTA 20-13 Para elaborar mermelada se hierve la gelatina en agua, lo que desnaturaliza las fibras de colágeno. Cuando se enfrían, las fibras desorganizadas forman una masa entrelazada que se solidifica y se convierte en un gel. En realidad, este gel se asemeja al colágeno secretado en un inicio por los fibroblastos, o sea antes de que las fibras se alineen y formen los puentes cruzados.

RESPUESTA 20-14 La evidencia que indica que el DNA es la plantilla que especifica todas las características estructurales de un organismo se basa en las observaciones de que los pequeños cambios en el DNA producidos por las mutaciones determinan modificaciones en el organismo. El DNA proporciona los planes que especifican la estructura, pero éstos deben ejecutarse durante el desarrollo, lo que implica la existencia de un ambiente apropiado (un embrión humano no entraría en el huevo de una cigüeña), la nutrición adecuada, las herramientas necesarias (como las proteínas reguladoras de genes apropiadas para el desarrollo temprano), una organización espacial adecuada (como asimetrías en la célula huevo necesarias para permitir la adecuada diferenciación celular durante las primeras divisiones celulares) y otras características. Por lo tanto, la herencia no se limita a la transmisión del DNA de un organismo, porque el desarrollo requiere condiciones apropiadas establecidas por la madre. Sin embargo, si se reúnen todas esas condiciones, los planes que se ejecuten en el genoma determinarán la estructura del organismo en desarrollo.

RESPUESTA 20-15 Los leucocitos circulan en el torrente sanguíneo y migran hacia los tejidos y fuera de ellos desempeñando su función normal de defender al organismo contra las infecciones: estas células son invasoras naturales. Cuando se producen mutaciones que alteran los controles normales sobre la producción de estas células no es necesario que otras mutaciones habiliten a las células para que se diseminen por el organismo. Por lo tanto, la cantidad de mutaciones que se deben acumular para originar una leucemia es menor que para otros tipos de cáncer.

RESPUESTA 20-16 La forma de la curva refleja la necesidad de que se acumulen muchas mutaciones en una célula para que se desarrolle cáncer. Si una sola mutación fuera suficiente, el gráfico sería una línea horizontal: la probabilidad de que se produzca una mutación específica y, en consecuencia, un cáncer sería la misma a cualquier edad. Si se requirieran dos mutaciones específicas el gráfico sería una línea recta ascendente desde el origen: la segunda mutación produciría un cambio equitativo en cualquier momento pero solo determinaría la transformación cancerosa de las células si ya se hubiera producido la primera mutación en el mismo linaje. Además, la probabilidad de que se hubiera producido la primera mutación sería proporcional a la edad del individuo. La curva tan empinada que se observa en la figura asciende en forma aproximada hasta la quinta potencia de la edad y esto implica que se deben acumular más de dos mutaciones para determinar el desarrollo de un cáncer. No es sencillo determinar en forma precisa la cantidad de mutaciones necesarias debido a las complejidades asociadas con el desarrollo del cáncer. Las mutaciones sucesivas pueden alterar la cantidad y el comportamiento de las células y en consecuencia modifican tanto la probabilidad de que se desarrollen mutaciones como las presiones de selección que impulsan la evolución de la enfermedad.

RESPUESTA 20-17 La exposición a un carcinógeno induce mutaciones, pero la cantidad de mutaciones relevantes en cada célula no suele ser suficiente para convertirla directamente en una célula cancerosa. Con el paso de los años las células han adquirido predisposición a desarrollar cáncer debido a la acumulación progresiva de mutaciones inducidas que desarrollan cada vez más mutaciones. Por último, alguna de ellas se con-

vierte en una célula cancerosa. El período prolongado entre la exposición y el cáncer torna muy difícil la determinación de la responsabilidad legal de los fabricantes de cigarrillos o los productores de carcinógenos industriales por el daño causado por sus productos.

RESPUESTA 20-18 Por definición un carcinógeno es cualquier sustancia que promueve la aparición de uno o varios tipos de cáncer. En consecuencia, se puede considerar que las hormonas sexuales son carcinógenos naturales. Aunque la mayoría de los carcinógenos actúan a través de la inducción directa de mutaciones, los efectos carcinogénicos también suelen ejercerse de otras maneras. Las hormonas sexuales incrementan tanto la tasa de división celular como la cantidad de células en los órganos sensibles a ellas, como las mamas, el útero y la próstata. El primer efecto aumenta la tasa de mutaciones por célula (porque las mutaciones se producen en forma espontánea durante la replicación del DNA) y la segregación de los cromosomas más allá de la presencia de factores ambientales; el segundo efecto aumenta la cantidad de células en riesgo. De esta y de otras formas posibles las hormonas pueden favorecer el desarrollo del cáncer aun cuando no produzcan mutaciones en forma directa.

RESPUESTA 20-19 La respuesta resumida es no. El cáncer, en general, no es una enfermedad hereditaria sino que se produce a partir de mutaciones que se desarrollan en las células somáticas del organismo. Sin embargo, en algunos tipos de cáncer muy raros hay un factor de riesgo hereditario intenso, de manera que los padres y sus hijos muestran la misma predisposición a una forma específica de la enfermedad. Esto se observa, por ejemplo, en familias portadoras de una mutación que altera una de las dos copias del gen supresor tumoral *APC*; por consiguiente, los niños heredan una tendencia especial a desarrollar cáncer colorrectal. También se observan tendencias hereditarias más débiles en varios otros cánceres, incluido el cáncer de mama, pero todavía se desconoce la mayor parte de los genes que determinan estos efectos.

Glosario

Aceptor de electrones
Átomo o molécula que capta electrones con facilidad, de modo que gana un electrón y se reduce.

Acetil CoA (acetil coenzima A)
Pequeña molécula hidrosoluble que transporta grupos acetilo en las células. Contiene un grupo acetilo ligado a la coenzima A (CoA) por un enlace tioéster fácilmente hidrolizable.

Ácido desoxirribonucleico: *véase* DNA.

Ácido
En el contexto de la biología celular, una molécula orgánica que se disocia en agua y genera iones hidronio (H3O+) (lo que produce un pH bajo).

Ácido graso
Compuesto, como el ácido palmítico, que tiene un ácido carboxílico unido a una larga cadena de hidratos de carbono. Se utiliza como una fuente importante de energía durante el metabolismo y como el punto de inicio de la síntesis de fosfolípidos. (*Véase* Lámina 2-4, pp. 70-71).



Ácido nucleico
RNA o DNA; consiste en una cadena de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster.

Ácido pirúvico
Metabolito formado a partir de la degradación de la glucosa que representa una conexión crucial con el ciclo del ácido cítrico y muchas vías biosintéticas.

Ácido ribonucleico. *véase* RNA.

Acoplamiento quimiosmótico
Mecanismo que utiliza un gradiente de iones hidrógeno (un gradiente de pH) a través de una membrana para dirigir un proceso que requiere energía, como la producción de ATP o el transporte de una molécula a través de una membrana.

Activador
Proteína que se une a una región reguladora específica del DNA y permite la transcripción de un gen adyacente.

Adaptación
Ajuste de la sensibilidad de una célula o de un organismo que sigue a una estimulación repetida. Permite una respuesta aun cuando haya un nivel de estimulación basal elevado.

Adenilciclasa
Enzima unida a la membrana que cataliza la formación de AMP cíclico a partir de ATP. Componente importante de algunas vías de señalización intracelular.

ADP (adenosina 5'-difosfato)
Nucleótido producido por la hidrólisis del fosfato terminal del ATP. (*Véase* Fig. 3-31).

Alcohol
Compuesto orgánico que contiene un grupo hidroxilo (-OH) unido a un átomo de carbono saturado: p. ej., alcohol etílico. (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

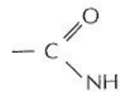
Aldehído
Compuesto orgánico reactivo que contiene el grupo –CH=O: p. ej., gliceraldehído (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Alelo
Uno de un grupo de formas alternativas de un gen. En una célula diploide, cada gen tendrá dos alelos, cada uno de los cuales ocupará la misma posición (locus) en cromosomas homólogos.

Almidón
Polisacárido compuesto exclusivamente por unidades de glucosa, utilizado como un depósito de energía en las células vegetales.

Alostérico
Describe una proteína que puede existir en dos o más conformaciones según la unión de una molécula (un ligando) a un sitio diferente del sitio catalítico. Las proteínas alostéricas compuestas por múltiples subunidades con frecuencia presentan una respuesta cooperativa a la unión del ligando, porque la unión de éste a una subunidad facilita la unión de ligandos a las otras subunidades.

Amida
Molécula que contiene un grupo carbonilo ligado a una amina. (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).



Amina
Molécula que contiene un grupo amino ($-NH_2$). (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Amino terminal: *véase* N-terminal.

Aminoácido
Molécula orgánica que contiene un grupo amino y un grupo carboxilo. Los α-aminoácidos (aquellos en los que el grupo amino y el grupo carboxilo están unidos al mismo átomo de carbono) son los elementos constitutivos de las proteínas. (*Véase* Lámina 2-5, pp. 72-73).

Aminoacil-tRNA sintetasa
Enzima que une el aminoácido correcto a una molécula de tRNA para formar un aminoacil-tRNA.

Amortiguador (*buffer*)
Cualquier ácido o base débil que puede liberar o captar protones, lo que sirve para mantener el pH en diversas condiciones.

AMP (adenosina 5'-monofosfato)
Uno de los cuatro nucleótidos de una molécula de RNA. El AMP es producido por la hidrólisis energéticamente favorable del ATP. (*Véase* Fig. 3-40).

AMP cíclico
Nucleótido generado a partir del ATP en respuesta a la estimulación hormonal de receptores de la superficie celular. El cAMP actúa como una molécula de señalización al activar la proteincinasa A; es hidrolizado a AMP por una fosfodiesterasa.

Anabolismo
Vías de reacción por las que se sintetizan moléculas grandes a partir de otras más pequeñas. Biosíntesis.

Anaerobio
Término que describe a una célula, un organismo o un proceso metabólico que funciona en ausencia de aire o, más precisamente, en ausencia de oxígeno molecular.

Anafase
Estadio de la mitosis durante el cual dos grupos de cromosomas se separan y se alejan uno del otro. Está compuesta por la anafase A (los cromosomas se mueven hacia los dos polos del huso) y la anafase B (los polos del huso se separan).

Anfipático
Que tiene regiones hidrófobas e hidrófilas, como una molécula de fosfolípido o de detergente.

Anillo de γ-tubulina
Complejo proteico de los centrosomas que nuclea el ensamblado de los microtúbulos.

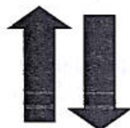
Anión
Ión con carga negativa, como por ejemplo Cl^- o CH_3COO^-.

Anticodón
Secuencia de tres nucleótidos en una molécula de RNA de transferencia que es complementaria del codón de tres nucleótidos de una molécula de RNA mensajero; el anticodón se aparea con un aminoácido específico unido en forma covalente a la molécula de RNA de transferencia.

Anticuerpo
Proteína producida por linfocitos B en respuesta a moléculas extrañas o a organismos invasores. Se une estrechamente a la molécula extraña o a la célula, inactivándolos o marcándolos para su destrucción.

Antígeno
Molécula que provoca la producción celular de anticuerpos neutralizantes específicos en una respuesta inmunitaria.

Antiparalelo
Término que describe dos estructuras similares organizadas en orientaciones opuestas, como las dos cadenas de una doble hélice de DNA.

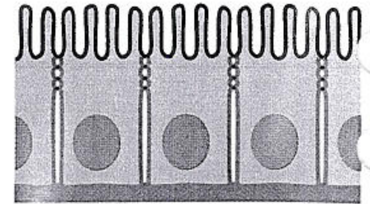


Antiportador
Tipo de transportador acoplado que transporta dos iones o pequeñas moléculas diferentes a través de una membrana en direcciones opuestas, simultáneamente o en secuencia.

Apareamiento
En un sentido genético, el fenómeno que se produce al principio de la meiosis y determina que dos cromosomas homólogos se alineen formando una estructura duplicada. (*Véase también* Par de bases).

APC: *véase* **Complejo promotor de la anafase.**

Apical
Describe el extremo de una célula, de una estructura o de un órgano. La superficie apical de una célula epitelial es la superficie libre ex-puesta (opuesta a la superficie basal).



Apoptosis
Tipo de muerte de una célula en la que la célula se encoge, se fragmenta su DNA y los cambios en la Gsuperficie celular activan su fagocitosis por los macrófagos.

Árbol filogenético
Gráfico o "árbol familiar" que muestra la historia evolutiva de un grupo de organismos.

Arquea (arqueobacteria)
Una de las dos divisiones de los procariontes, típicamente hallada en ambientes hostiles como las fuentes termales (manantiales de agua caliente) o los medios de alta salinidad. (*Véase también* **Eubacteria**).

Áster
Sistema de microtúbulos con forma de estrella que emana de un centrosoma o de un polo del huso mitótico.

Átomo
La partícula más pequeña de un elemento que todavía conserva sus propiedades químicas distintivas.

ATP (adenosina 5'-trifosfato)
Nucleósido trifosfato compuesto por adenina, ribosa y tres grupos fosfato que es el principal transportador de energía química en las células. Los grupos fosfato terminales son altamente reactivos en el sentido de que su hidrólisis, o transferencia a otra molécula, tiene lugar con la liberación de una gran cantidad de energía libre. (*Véase* Fig. 2-23).

ATP sintasa
Complejo enzimático asociado con la membrana que cataliza la formación de ATP durante la fosforilación oxidativa y la fotosíntesis. Se lo encuentra en las mitocondrias, los cloroplastos y las bacterias.

Atracción electrostática
Fuerza de atracción que se genera entre átomos de carga opuesta. Los ejemplos corresponden a los enlaces iónicos y a las atracciones entre moléculas que contienen enlaces covalentes polares.

Axón
Prolongación delgada y larga de las células nerviosas que puede conducir rápidamente impulsos nerviosos a largas distancias con lo cual envía señales a otras células.

Azúcar
Sustancia compuesta por carbono, hidrógeno y oxígeno con la fórmula general $(CH_2O)_n$. Un hidrato de carbono o sacárido. El "azúcar" de uso diario es sacarosa, un disacárido de sabor dulce producido por la remolacha azucarera o la caña de azúcar.

Bacterias
Nombre común de los microorganismos procariontes, aunque se refiere más precisamente a las eubacterias, las "bacterias verdaderas", uno de los tres dominios principales de la vida. La mayoría son microorganismos unicelulares. Algunas especies de bacterias causan enfermedades. (*Véase también* **Arquea**).

Bacteriorrodopsina
Proteína pigmentada que se encuentra en la membrana plasmática de una bacteria con afinidad por la sal, *Halobacterium halobium*; bombea protones fuera de la célula en respuesta a la luz.

Basal
Situado cerca de la base. La superficie basal de una célula se opone a la superficie apical.

Base
Molécula que acepta un protón en solución. También se utiliza para referirse a las purinas o a las pirimidinas del DNA y el RNA, que son bases orgánicas.

Bicapa lipídica
Delgada hoja bimolecular compuesta principalmente por moléculas de fosfolípidos, que forma la base estructural de todas las membranas celulares. Las dos capas de moléculas lipídicas están empaquetadas con sus colas hidrófobas apuntando hacia adentro y sus cabezas hidrófilas hacia afuera, expuestas al agua.



Biorientación
Alineación simétrica de pares de cromátidas hermanas en el huso mitótico, de manera que una cromátida está unida a un polo del huso, y la otra, al polo opuesto.

Biosíntesis
Formación de moléculas complejas a partir de sustancias simples por las células vivas.

Bivalente
Cromosoma duplicado apareado con su cromosoma homólogo duplicado al comienzo de la meiosis.

Bloque haplotipo
Combinación de alelos y otros marcadores de DNA en un cromosoma, que ha sido heredada en un gran bloque ligado –sin haber sido alterado por recombinación genética– a lo largo de muchas generaciones.

Bomba de Na^+ y K^+ (Na^+-K^+ ATPasa, bomba de sodio)
Proteína transportadora transmembrana, hallada en la membrana plasmática de la mayoría de las células animales, que bombea Na^+ hacia el exterior y K^+ hacia el interior de la célula utilizando la energía derivada de la hidrólisis del ATP.

Bomba de sodio: *véase* **bomba de Na^+-K^+**.

Cadena adelantada
Una de las dos cadenas de DNA recién sintetizadas hallada en una horquilla de replicación. La cadena adelantada es elaborada mediante síntesis continua en dirección 5'-3'.

Cadena de transporte de electrones
Una serie de moléculas transportadoras de electrones incluidas en la membrana a través de las cuales se mueven los electrones de un nivel de energía más alto a uno más bajo, como en la fosforilación oxidativa y en la fotosíntesis.

Cadena lateral
Porción de un aminoácido no involucrada en formar enlaces peptídicos y que le da a cada aminoácido sus propiedades únicas.

Cadena retrasada
Una de las dos cadenas recién sintetizadas de DNA hallada en una horquilla de replicación. La cadena retrasada es elaborada en tramos discontinuos que posteriormente se unen en forma covalente.

Cadherina
Miembro de una familia de proteínas que media la adhesión intercelular dependiente de Ca^{2+} en los tejidos animales.

Calmodulina (CaM)
Pequeña proteína de unión a Ca^{2+} que modifica la actividad de muchas enzimas y proteínas de transporte de membrana dianas en respuesta a cambios de la concentración de Ca^{2+}.

Caloría
Unidad de calor. Una caloría ("c" minúscula) es la cantidad de calor necesaria para aumentar la temperatura de 1 gramo de agua en 1 °C.

CaM: *véase* **Calmodulina**.

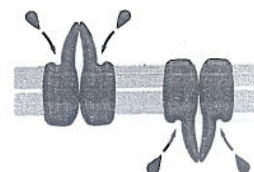
Cambio de energía libre (ΔG)
"Delta G": diferencia de energía libre entre las moléculas del reactivo y del producto en una reacción química. Un valor negativo alto de ΔG indica que la reacción tiene una fuerte tendencia a producirse. El cambio de energía libre estándar (ΔG^o) es el cambio de energía libre medido a una concentración, temperatura y presión definidas.

Canal iónico
Proteína o complejo proteico transmembrana que forma un canal acuoso a través de la bicapa lipídica por el cual pueden difundir iones inorgánicos específicos a favor de sus gradientes electroquímicos.



Canal
Poro acuoso de una membrana lipídica, con paredes formadas por proteínas, a través del cual pueden pasar determinados iones o moléculas.

Canal regulado por fuerza
Proteína de membrana que permite la entrada selectiva de iones específicos en una célula y que es abierto por fuerza mecánica.



Canal regulado por ligando
Canal iónico que se abre cuando se le une una molécula pequeña, por ejemplo un neurotransmisor.

Canal regulado por voltaje
Proteína de membrana que permite el pasaje selectivo de iones como el Na^+ (canal de Na^+ regulado por voltaje) a través de una membrana y que se abre ante los cambios del potencial de membrana. Se encuentra principalmente en las células eléctricamente excitables, como las células nerviosas y musculares.

Cáncer
Enfermedad causada por una división celular anormal y descontrolada que provoca crecimientos localizados, o tumores, que pueden diseminarse por todo el cuerpo.

Capa de hidrato de carbono
Capa de residuos de azúcar, incluidas las porciones de polisacáridos de los proteoglucanos y oligosacáridos unidos a moléculas proteicas o lipídicas, de la superficie externa de una célula.

Carboxilo terminal: *véase* **C terminal.**

Cariotipo
Presentación del grupo completo de cromosomas de una célula dispuestos en relación con el tamaño, la forma y el número.

Cascada de señalización
Secuencia de reacciones proteicas ligadas, que con frecuencia incluyen fosforilación y desfosforilación, que transporta información dentro de una célula y, a menudo, amplifica una señal inicial.

Cascada: *véase* **cascada de señalización.**

Caspasa
Familia de proteasas. Los miembros de la familia son activados como parte de la vía que lleva a la apoptosis.

Catabolismo
Término general empleado para designar las reacciones catalizadas por enzimas en una célula donde las moléculas complejas son degradadas a moléculas más simples con liberación de energía. Los intermediarios en estas reacciones catabólicas a veces se denominan catabolitos.

Catálisis
Aceleración de una reacción química debida a la presencia de una sustancia (el catalizador) que permanece sin modificarse después de la reacción. En las células, casi todas las reacciones son catalizadas (por enzimas) lo que permite que se produzcan a la temperatura de la materia viva y dentro de la escala de tiempo requerida.

Catalizador
Sustancia que acelera una reacción química sin experimentar cambio alguno. Las enzimas son catalizadores proteicos.

Catión
Ión con carga positiva, como Na^+ o $CH_3NH_3^+$.

Cdk: *véase* **Cinasa dependiente de ciclina.**

Cdk de G_1
Proteincinasa dependiente de ciclina cuya actividad impulsa a la célula por la fase G_1.

Cdk de G_1/S
Proteincinasa dependiente de ciclina cuya actividad desencadena el ingreso en la fase S del ciclo celular.

Cdk de M
Complejo proteico activo formado al comienzo de la fase M del ciclo celular por una M-ciclina y la proteincinasa dependiente de ciclina (Cdk) mitótica.

cDNA: *véase* **DNA complementario.**

Célula
La unidad básica de la que están formados los organismos vivos, que consiste en una solución acuosa de moléculas orgánicas circundada por una membrana. Todas las células se originan en células existentes, habitualmente por un proceso de división.

Célula fagocítica
Célula, como el macrófago o el neutrófilo, especializada en captar partículas y microorganismos por fagocitosis.

Célula germinal (gameto)
Tipo de célula de un organismo diploide que lleva sólo un grupo de cromosomas y está especializada para la reproducción sexual. Un espermatozoide o un gameto femenino maduro.

Célula madre
Célula relativamente indiferenciada que puede continuar dividiéndose de manera indefinida y dar origen a células hijas que presentan diferenciación terminal a tipos celulares particulares.

Célula madre embrionaria (ESC)
Tipo celular indiferenciado derivado de la masa celular interna de un embrión temprano de mamífero. Las células madre embrionarias pueden ser mantenidas indefinidamente como una población celular en proliferación (línea celular) en cultivo, pero siguen teniendo la capacidad de diferenciarse, cuando se las coloca en un ambiente apropiado, dando lugar a cualquiera de los tipos celulares especializados del cuerpo del adulto.

Célula madre pluripotente inducida (iPSC)
Célula somática reprogramada a un estado similar al de las células madre embrionarias por introducción artificial de un conjunto particular de genes.

Célula nerviosa: *véase* **Neurona**

Célula somática
Cualquier célula vegetal o animal que no sea una célula germinal ni una célula precursora de la línea germinal. (Del griego *soma*, que significa cuerpo).

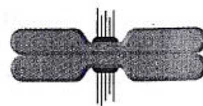
Celulosa
Polisacárido estructural formado por largas cadenas de unidades de glucosa ligadas en forma covalente. Otorga resistencia a la tensión a las paredes de las células vegetales.

Centríolo
Formación cilíndrica corta de microtúbulos, que se suele encontrar en pares en el centro de un centrosoma, en las células animales. También se lo observa en la base de los cilios y de los flagelos (y se los denominada cuerpos basales).

Centro de reacción
En las membranas fotosintéticas, un complejo proteico que contiene un par de moléculas de clorofila especializadas que realizan las reacciones fotoquímicas convirtiendo la energía de los fotones en electrones de alta energía que se transporta a lo largo de la cadena de transporte de electrones fotosintética.

Centro ferrosulfurado
Uno de una familia de transportadores de electrones que contienen átomos de hierro unidos a átomos de azufre y cadenas laterales de cisteína; observados en cadenas de transporte de electrones, como las de las mitocondrias y los cloroplastos.

Centrómero
Región de estrechamiento de un cromosoma mitótico que mantiene unidas las cromátidas hermanas; también es el sitio del DNA donde se forma el cinetocoro, que después captura microtúbulos del huso mitótico.

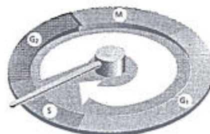


Centrosoma (centro celular)
Orgánulo de las células animales de localización central que es el centro organizador primario de los microtúbulos y que se separa formando los dos polos del huso durante la mitosis. En la mayoría de las células animales, contiene un par de centríolos.

Ciclina
Proteína cuya concentración aumenta y desciende periódicamente en sincronía con el ciclo de las células eucariontes. Las ciclinas activan proteincinasas específicas (*véase* proteincina-

sas dependientes de ciclina) y, por lo tanto, ayudan a controlar la progresión de un estadio del ciclo celular al siguiente.

Ciclo celular
Ciclo reproductivo de la célula: secuencia ordenada de eventos por los cuales una célula duplica su contenido y se divide en dos.



Ciclo del ácido cítrico (ciclo del ácido tricarboxílico o TCA; ciclo de Krebs)
Vía metabólica central de todos los organismos aerobios que oxida grupos acetilo derivados de las moléculas de los alimentos hasta convertirlos en CO_2. En las células eucariontes, estas reacciones se localizan en la matriz mitocondrial.

Ciclo del centrosoma
Duplicación del centrosoma (durante la interfase) y separación de los dos centrosomas nuevos (al comienzo de la mitosis) formando los polos del huso mitótico.

Cigoto
Célula diploide producida por la fusión de un gameto masculino y un gameto femenino. Gameto femenino fecundado.

Cilio
Extensión filiforme de la superficie de una célula con un haz central de microtúbulos y capaz de llevar a cabo movimientos ondulantes repetidos. Los cilios, en grandes números, impulsan el movimiento de los líquidos sobre las láminas epiteliales, como en los pulmones.

Cinasa: *véase* **proteincinasa.**

Cinesina
Miembro de una gran familia de proteínas motoras que utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para moverse a lo largo de un microtúbulo.



Cinetocoro
Estructura de un cromosoma mitótico, que contiene una proteína compleja a la que se unen los microtúbulos. El cinetocoro se forma en la parte del cromosoma conocida como centrómero.

Circuito de retroalimentación positiva
Situación en la que el producto final de una reacción estimula su propia producción.

Cis
Sobre el mismo lado; p. ej., la red cis de Golgi es la parte que está más cerca del retículo endoplasmático.

Citocina
Pequeña proteína fabricada y secretada por células que actúan sobre células vecinas modificando su comportamiento. Las citocinas actúan a través de receptores de la superficie celular.

Citocinesis
División del citoplasma de una célula animal o vegetal en dos, aunque diferente de la división de su núcleo (que corresponde a la mitosis).

Citocromo
Proteína coloreada que contiene hemo y que transfiere electrones durante la respiración celular y la fotosíntesis.

Citoesqueleto
Sistema de filamentos proteicos del citoplasma de una célula eucarionte que le da su forma y la capacidad de movimiento dirigido. Sus componentes más abundantes son los filamentos de actina, los microtúbulos y los filamentos intermedios.

Citoplasma
Contenido de una célula que está situado dentro de su membrana plasmática pero, en el caso de las células eucariontes, fuera del núcleo.

Citosol
Contenido del principal compartimiento del citoplasma, con exclusión de los orgánulos limitados por membrana, como el retículo endoplasmático y las mitocondrias. Fracción celular que queda después de eliminación de las membranas, los componentes citoesqueléticos y otros orgánulos.

Clatrina
Proteína que reviste un tipo de vesícula de transporte. Las vesículas con cubierta de clatrina brotan del complejo de Golgi en la vía secretora externa y brotan de la membrana plasmática en la vía endocítica interna.

Clonación
Producción de muchas copias idénticas de una célula o de una molécula de DNA o de un organismo.

Clonación del DNA: *véase* **clonación.**

Clonación reproductora
Producción artificial de copias genéticamente idénticas de un animal mediante, por ejemplo, el trasplante de un núcleo de una célula somática a un huevo fecundado enucleado.

Clorofila
Pigmento que absorbe luz y desempeña un papel central en la fotosíntesis.

Cloroplasto
Orgánulo especializado de las algas y las plantas que contiene clorofila y en el que tiene lugar la fotosíntesis.

Código genético
Grupo de reglas que especifican la correspondencia entre los tripletes de nucleótidos (codones) del DNA o el RNA y los aminoácidos de las proteínas.

Código regulador de proteínas
Conjunto de modificaciones covalentes que presenta una proteína en cualquier momento dado, que controla su comportamiento dentro de la célula.

Codón
Secuencia de tres nucleótidos de una molécula de DNA o de RNA mensajero que representa la instrucción para la incorporación de un aminoácido específico a una cadena polipeptídica en crecimiento.

Coenzima A (CoA)
Molécula pequeña utilizada en la transferencia enzimática de grupos acilo en la célula. (*Véanse también* Acetil CoA y Fig. 3-36).

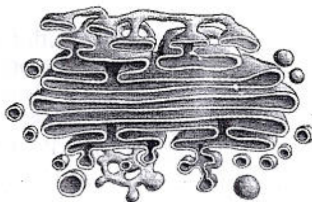
Cohesina
Complejo proteico que forma un anillo que mantiene juntas a las cromátidas hermanas después de la replicación del DNA en el ciclo celular.

Colágeno
Proteína fibrosa rica en glicina y prolina que es un componente fundamental de la matriz extracelular y de los tejidos conectivos. Existe en muchas formas: el colágeno de tipo I, el más común, se encuentra en la piel, los tendones y los huesos; el de tipo II, en el cartílago; el de tipo IV, en la lámina basal; etcétera.

Colesterol
Molécula lipídica con una estructura esteroide de cuatro anillos

característica, que es un componente importante de la membrana plasmática de las células animales. (*Véase* Fig. 11-7).

Complejo de Golgi
Orgánulo delimitado por una membrana de las células eucariontes donde se modifican y se clasifican para el transporte a otros sitios las proteínas y los lípidos elaborados en el retículo endoplasmático. (Denominado así en honor a su descubridor, Camilo Golgi.)



Complejo de reconocimiento del origen de replicación (ORC)
Complejo proteico grande que está unido al DNA en los orígenes de replicación de los cromosomas eucariontes durante todo el ciclo celular.

Complejo
Grupo de macromoléculas unidas entre sí mediante enlaces no covalentes que forman una gran estructura macromolecular. Las asociaciones de proteínas se denominan complejos proteicos; las asociaciones de proteínas y de ácidos nucleicos, complejos nucleoproteicos.

Complejo promotor de la anafase (APC)
Complejo proteico que promueve la destrucción de proteínas específicas catalizando su ubicuitinación. Se trata de un componente clave del sistema de control del ciclo celular.

Complejo proteico: *véase* **Complejo.**

Complejo remodelador de la cromatina
Enzima (en general con múltiples subunidades) que utiliza la energía de la hidrólisis del ATP y altera las interacciones entre el DNA y las histonas en los cromosomas eucariontes; la alteración resultante determina un cambio de la accesibilidad del DNA subyacente a otras proteínas, incluidas las que participan en la transcripción.

Complementario
Describe dos superficies moleculares que encajan estrechamente entre sí y forman enlaces no covalentes entre sí. Por ejemplo, pares de bases complementarias, como A y T, y las dos cadenas complementarias de una molécula de DNA.

Condensación: *véase* **Condensación cromosómica.**

Condensación cromosómica
Proceso por el cual un cromosoma se empaqueta en una estructura más compacta antes de la fase M del ciclo celular.

Condensina
Proteína compleja con estructura en forma de anillo que contribuye a la condensación de los cromosomas.

Conformación
Localización espacial de los átomos de una molécula unos respecto de los otros. Forma tridimensional precisa de una proteína o de otra macromolécula.

Constante de equilibrio (K)
Un número que caracteriza al estado estable alcanzado por una reacción química reversible. Dado por la relación de las constantes de las velocidades de avance y de retroceso de una reacción. (*Véase* Cuadro 3-1, p. 96).

Control combinatorio
Describe la manera en la que grupos de proteínas funcionan juntos controlando la expresión de un único gen.

Control postranscripción
Regulación de la expresión génica que se produce después de que ha comenzado la transcripción del gen; por ejemplo, regulación del corte y empalme del RNA y de otros eventos de procesamiento del RNA, y regulación de la traducción por micro-RNA.

Corrección
Proceso por el cual la DNA polimerasa corrige sus propios errores a medida que se mueve a lo largo del DNA.

Corte y empalme alternativo
Corte y empalme de transcriptos de RNA del mismo gen en diferentes maneras, cada una de las cuales produce una proteína diferente.

Corte y empalme del RNA
Proceso en el que se escinden intrones de moléculas de RNA del núcleo durante la formación de RNA mensajero.

Corteza celular
Capa especializada de citoplasma de la cara interna de la membrana plasmática. En las células animales, es una capa rica y activa responsable de los movimientos de la superficie celular.

Cristalografía de rayos X
Técnica utilizada para determinar la estructura tridimensional de las proteínas analizando el patrón de difracción de un haz de rayos X que atraviesa un cristal de la proteína.

Cromátida hermana
Una copia de un cromosoma (cromátida) formada por replicación del DNA que todavía está unida a la otra copia en el centrómero; el par de cromátidas se denomina cromátidas hermanas.

Cromátida: *véase* **Cromátida hermana.**

Cromatina
Complejo de DNA, histonas y proteínas no histónicas hallado en el núcleo de una célula eucarionte. Material del que están compuestos los cromosomas.

Cromatografía
Término general para un tipo de técnica que se utiliza para separar moléculas de una mezcla sobre la base de su tamaño, su carga o su capacidad para unirse a un grupo químico particular. En una forma común de la técnica, la mezcla se corre a través de una columna que contiene una matriz de partículas diseñada para unirse (o dejar pasar) la molécula deseada.

Cromosoma
Estructura filiforme larga compuesta por DNA y proteínas asociadas que transportan la información genética de un organismo. Especialmente visible en las células vegetales o animales que experimentan mitosis o meiosis.

Cromosoma en interfase
Estado de un cromosoma eucarionte cuando la célula se encuentra entre divisiones; estos cromosomas son activos en la transcripción y mucho más extendidos que los cromosomas mitóticos.

Cromosoma homólogo
Una de las dos copias de un cromosoma particular de una célula diploide, uno del padre y el otro de la madre.

Cromosoma mitótico
Cromosoma duplicado altamente condensado con los dos nuevos cromosomas (denominados también cromáticas

hermanas) todavía unidos en el centrómero. Un cromosoma durante uno de los estadios de la mitosis.

Cromosoma sexual
Cromosoma que puede estar presente o ausente, o presente en un número variable de copias, de acuerdo con el sexo de un individuo. En los mamíferos, los cromosomas X e Y.

Cromosoma X
Uno de los dos cromosomas sexuales de los mamíferos. Las células de los hombres poseen un cromosoma X y un cromosoma Y.

Cromosoma Y
Uno de los dos cromosomas sexuales de los mamíferos. Las células de las mujeres contienen dos cromosomas X.

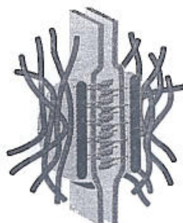
C-terminal (carboxilo terminal)
Extremo de una cadena polipeptídica que lleva un grupo ácido carboxílico no ligado.

Cuerpo basal: *véase* **Centríolo**.

DAG: *véase* **Diacilglicerol**.

Dalton
Unidad de masa molecular. Se define como una doceava parte de la masa de un átomo de carbono-12 ($1{,}66 \times 10^{-24}$ g); aproximadamente igual a la masa de un átomo de hidrógeno.

Desmosoma
Unión intercelular especializada formada, en general, entre dos células epiteliales, que se caracteriza por placas densas de proteínas en las que se insertan filamentos intermedios de las dos células adyacentes.



Desnaturalizar
Causar un cambio drástico en la conformación de una proteína o de un ácido nucleico por calentamiento o por exposición a sustancias químicas. Por lo general, provoca la pérdida de la función biológica.

Detección genética sistemática
Búsqueda a través de un conjunto de mutantes de un fenotipo particular.

Detergente
Sustancia jabonosa utilizada por los bioquímicos para solubilizar las proteínas de membrana.

Diacilglicerol (DAG)
Lípido producido por la fragmentación de fosfolípidos de inositol en respuesta a señales extracelulares. Compuesto por dos cadenas de ácidos grasos unidas a glicerol, actúa como molécula de señalización localizada en la membrana que ayuda a activar a la proteincinasa C.

Diferenciación
Proceso por el cual una célula experimenta un cambio progresivo hasta convertirse en un tipo celular más especializado y, en general, fácil de reconocer.

Difusión
Propagación de moléculas y de pequeñas partículas de una localización a otra debido a movimientos aleatorios dirigidos térmicamente.

Dímero
Estructura compuesta por dos mitades. Un homodímero está compuesto por dos subunidades idénticas; un heterodímero, por dos subunidades diferentes.

Dineína
Miembro de una familia de grandes proteínas motoras que presentan movimientos dependientes del ATP a lo largo de los microtúbulos. La dineína es responsable del movimiento de los cilios.

Diploide
Célula u organismo que contiene dos grupos de cromosomas homólogos y, por lo tanto, dos copias de cada gen o locus genético. (*Véase* también haploide).

Disposición en espiral (cinta enrollada)
Estructura proteica en forma de varilla especialmente estable formada por dos o más hélices α entrelazadas una alrededor de la otra.

Divergencia
Diferencias debidas a una mutación que se acumulan en dos secuencias de DNA derivadas de una secuencia ancestral común.

División celular
Separación de una célula en dos células hijas. En las células eucariontes, implica la división del núcleo (mitosis) seguida por la división del citoplasma (citocinesis).

DNA **(ácido desoxirribonucleico)**
Polinucleótido bicatenario formado por dos cadenas separadas de unidades de desoxirribonucleótidos unidas en forma covalente. Actúa como el depósito de la información genética de la célula que se transmite de generación en generación.

DNA **complementario (cDNA)**
Molécula de DNA producida como una copia de mRNA y que, por lo tanto, carece de los intrones presentes en el DNA genómico. Se utiliza para determinar la secuencia de aminoácidos de una proteína mediante la secuenciación del DNA o para producir la proteína en grandes cantidades mediante clonación seguida de expresión.

DNA **ligasa**: *véase* **Ligasa**.

DNA **polimerasa**: *véase* **Polimerasa**.

DNA **recombinante**
Molécula de DNA compuesta por DNA de diferentes fuentes.

Doble hélice
Conformación típica de una molécula de DNA en la que dos cadenas polinucleotídicas se enrollan una alrededor de la otra con apareamiento de las bases entre las cadenas.



Dogma central
Principio por el cual la información genética fluye del DNA al RNA y a la proteína.

Dominio
Región definida pequeña de una estructura. Un dominio proteico es una región plegada, estable y compacta, de un polipéptido. Un dominio de membrana es una región de la bicapa con una composición lipídica y proteica característica.

Dominio de membrana
Región funcionalmente especializada de una membrana celular, caracterizada por la presencia de proteínas particulares.

Dominio proteico: *véase* **Dominio**.

Donante de electrones
Molécula que cede fácilmente un electrón y se oxida durante el proceso.

Duplicación génica
Duplicación accidental de un gen (o de una parte de DNA que contiene varios genes) del genoma. Después, las dos copias resultantes del gen pueden divergir por la acumulación de mutaciones. Las familias génicas surgen a través de una serie de fenómenos de duplicación de genes.

Ecuación de Nernst
Expresión cuantitativa que relaciona la razón de equilibrio de las concentraciones de un ión a ambos lados de una membrana permeable con la diferencia de voltaje a través de la membrana.

Eje polipeptídico
Esqueleto de átomos formado por enlaces peptídicos repetidos que se extiende por una molécula proteica al que se unen las cadenas laterales aminoacídicas.

Electroforesis
Técnica para separar una mezcla de proteínas de fragmentos de DNA por tamaño y carga eléctrica colocándola en un gel de polímero y sometiéndola a un campo eléctrico. Las moléculas migran a través del gel a diferentes velocidades según su tamaño y carga neta.

Electrón
Partícula subatómica fundamental con una unidad de carga negativa (e^-).

Elemento
Sustancia que no puede ser fragmentada a ninguna otra forma química; compuesto por un solo tipo de átomo.

Elemento genético móvil
Segmento de DNA corto que puede moverse, a veces a través de un RNA intermediario, de un sitio del genoma a otro.

Empalmosoma (ayustosoma)
Gran ensamblado de moléculas de RNA y proteínas que lleva a cabo el corte y empalme de intrones del pre-mRNA en las células eucariontes.

Endocitosis
Captación de material hacia el interior de una célula mediante una invaginación de la membrana plasmática y su internalización en una vesícula rodeada de membrana. (*Véanse* también pinocitosis y fagocitosis).

Endocitosis mediada por receptores
Mecanismo de captación selectiva de material por las células animales en el que una macromolécula se une a un receptor de la membrana plasmática e ingresa en la célula en una vesícula con cubierta de clatrina.

Endosoma
Compartimiento de una célula eucarionte delimitado por membrana por el que pasa el material captado por endocitosis en su camino hacia los lisosomas.

Energía de activación
Energía extra que debe adquirir una molécula para experimentar una reacción química particular.

Energía de enlace
Fuerza que resulta del enlace químico entre dos átomos, medida como la energía en kilocalorías necesaria para romperlo.

Energía libre (G)
Energía que puede ser extraída de un sistema para realizar un trabajo útil, como impulsar una reacción química. La energía libre estándar de una sustancia, G^o, es su energía libre medida a una concentración, temperatura y presión definidas.

Enlace covalente
Unión química estable entre dos átomos en el que se comparten uno o más pares de electrones.

Enlace de alta energía
Enlace covalente cuya hidrólisis libera una cantidad inusualmente grande de energía libre en las condiciones existentes en una célula; p. ej., los enlaces fosfodiéster del ATP y las uniones tioéster de la acetil CoA.

Enlace disulfuro (unión S-S)
Unión covalente formada entre dos grupos sulfhidrilos de cisteínas. Vía común por la que se unen dos proteínas o diferentes partes de la misma proteína en el espacio extracelular.

Enlace doble
Tipo de unión química entre dos átomos que se forma porque comparten cuatro electrones.

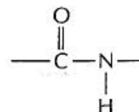
Enlace fosfodiéster
Enlace químico covalente formado en el que dos átomos de carbono se unen mediante un enlace éster (a través de átomos de oxígeno) al mismo grupo fosfato; los enlaces fosfodiéster unen los nucleótidos adyacentes del RNA o del DNA. (*Véase* Fig. 2-25).

Enlace iónico
Fuerza de atracción que mantiene juntos dos iones, uno positivo y el otro negativo.

Enlace no covalente
Enlace químico en el que, a diferencia de un enlace covalente, no se comparten electrones. Los enlaces no covalentes son relativamente débiles, pero se pueden sumar y producir interacciones intermoleculares fuertes, muy específicas.

Enlace o puente de hidrógeno
Enlace químico no covalente, débil, entre un átomo electronegativo, como el nitrógeno o el oxígeno, y un átomo de hidrógeno unido a otro átomo electronegativo.

Enlace peptídico
Enlace químico entre el grupo carbonilo de un aminoácido y el grupo amino de un segundo aminoácido, una forma especial de enlace amida. (*Véase* Lámina 2-5, pp. 72-73).



Enlace químico
Afinidad química entre dos átomos que los mantiene juntos. Los tipos encontrados en las células vivas incluyen enlaces iónicos, enlaces covalentes, enlaces polares y enlaces de hidrógeno.

Enlace tioéster
Enlace de alta energía formado por una reacción de condensación entre un grupo ácido (acilo) y un grupo tiol (–SH); se observa, por ejemplo, en la acetil CoA y en muchos complejos enzima-sustrato.

Enlace: *véase* **Enlace químico**.

Entrecruzamiento
Proceso por medio del cual dos cromosomas homólogos se rompen en sitios correspondientes y se vuelven a unir produciendo dos cromosomas recombinados, lo que determina un intercambio físico de segmentos de DNA.

Entropía
Cantidad termodinámica que mide el grado de desorden de un sistema; cuanto más alta es la entropía mayor es el desorden.

Envoltura nuclear
Doble membrana que rodea al núcleo y que consiste en una membrana externa y una interna perforadas por los poros nucleares.

Enzima
Proteína que cataliza una reacción química específica.

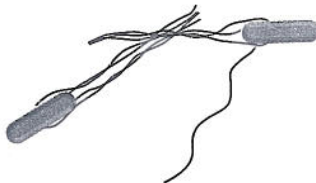
Epitelio
Lámina de células que cubren o revisten una superficie externa o una cavidad corporal interna.

Equilibrio
En un contexto químico, estado en el que dos o más reacciones se están produciendo de modo que se equilibran exactamente entre sí y no provocan ningún cambio químico neto.

ESC: *véase* **Célula madre embrionaria.**

Escala de pH
Escala utilizada para medir la acidez de una solución: "p" se refiere a una potencia de 10, "H" al hidrógeno. Se define como el logaritmo negativo de la concentración del iones hidrógeno en moles por litro (M). Así, una solución ácida con pH 3 contendrá 10^{-3} M de iones hidrógeno.

Escherichia coli (E. coli)
Bacteria con forma de varilla que se encuentra normalmente en el colon de los seres humanos y de otros mamíferos y muy utilizada en la investigación biomédica.



Especificidad
Afinidad selectiva de una molécula por otra que permite que las dos se unan o reaccionen, aun en presencia de muchas especies moleculares no relacionadas.

Espectroscopia por resonancia magnética (RM)
Técnica empleada para determinar la estructura tridimensional de una proteína; se la practica en solución sin requerir un cristal proteico.

Estado de transición
Estructura química que se forma transitoriamente en el curso de una reacción y tiene la máxima energía libre de cualquier reacción intermedia.

Estroma
(1) Tejido conectivo en el que está incluido un epitelio glandular o de otro tipo. (2) Espacio interior grande de un cloroplasto que contiene enzimas que incorporan CO_2 a los azúcares para la fotosíntesis.

Estructura secundaria
Patrón de plegamiento local regular de una molécula polimérica. En las proteínas, hace referencia a hélices α y hojas β.

Eubacterias
Término apropiado para las bacterias comunes, utilizado para distinguirlas de las arqueas.

Eucarionte
Organismo vivo compuesto por una o más células con un núcleo y un citoplasma distinguibles. Incluye todas las formas de vida, excepto arqueas y bacterias (procariontes) y virus.

Eucromatina
Uno de los dos estados principales en los que se halla la cromatina dentro de una célula en interfase; el otro es la heterocromatina. Caracterizada por modificaciones particulares de histonas y de proteínas asociadas; por lo general, los genes de la eucromatina pueden ser expresados.

Evolución
Cambio gradual de los organismos vivos que tiene lugar a lo largo de las sucesivas generaciones y que da como resultado la formación de nuevas especies.

Exocitosis
Proceso por el cual la célula eucarionte secreta la mayoría de las moléculas. Éstas son empaquetadas en vesículas delimitadas por membrana que se fusionan con la membrana plasmática y liberan su contenido hacia el exterior.

Exón
Segmento de un gen eucarionte que es transcripto a RNA y expresado; determina la secuencia de aminoácidos de parte de una proteína.

Expresión génica
Proceso por el cual un gen ejerce sus efectos sobre una célula u organismo al dirigir la síntesis de una proteína con una actividad característica.

Factor de crecimiento
Molécula polipeptídica de señalización extracelular que estimula el crecimiento o la proliferación de una célula; p. ej., el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).

Factor de iniciación de la traducción
Proteína que promueve la asociación correcta de los ribosomas con el mRNA y es necesario para el comienzo de la síntesis proteica.

Factor de iniciación
Proteína que promueve la asociación apropiada de los ribosomas con el mRNA y es necesaria para la iniciación de la síntesis de proteínas.

Factor de supervivencia
Molécula de señalización extracelular que debe estar presente para evitar la apoptosis.

Factor de transcripción
Término general aplicado a cualquier proteína necesaria para iniciar o regular la transcripción en los eucariontes. Incluye reguladores de la transcripción, así como los factores de transcripción generales.

Factores de transcripción general
Proteínas que se ensamblan en los promotores de muchos genes eucariontes cerca del sitio de inicio de la transcripción y colocan la RNA polimerasa en la posición correcta.

FAD: *véase* **$FADH_2$.**

$FADH_2$ (flavina adenina dinucleótido reducido)
Un transportador de electrones importante del metabolismo producido por la oxidación de FAD durante la oxidación de catabolitos, como el ácido succínico.

Fagocitosis
Proceso por el cual un material particulado es endocitado ("comido") por una célula. Prominente en las células predadoras, como *Amoeba proteus*, y en células del sistema inmunitario de los vertebrados, como los macrófagos.

Familia Bcl2
Familia de proteínas intracelulares que promueven o inhiben la apoptosis regulando la activación de las caspasas.

Familia de la proteína Rho
Familia de GTPasas pequeñas involucradas en la señalización que causa una reorganización del citoesqueleto de actina.

Familia de proteínas
Grupo de proteínas de un organismo con una secuencia similar de aminoácidos. Se considera que la semejanza refleja la evolución de los genes que codifican las proteínas a partir de un gen ancestral común mediante un proceso de duplicación génica seguido de divergencia génica. Por lo general, los diferentes miembros de una familia de proteínas tendrán funciones relacionadas, pero distintas. Por ejemplo, cada miembro de la familia de las proteincinasas lleva a cabo reacciones de fosforilación similares, pero los sustratos y la regulación difieren para cada enzima.

Fase G_1
Fase 1 del ciclo celular de los eucariontes, que tiene lugar entre el final de la citocinesis y el comienzo de la síntesis de DNA.

Fase G_2
Fase 2 del ciclo celular en los eucariontes que tiene lugar entre el final de la síntesis de DNA y el comienzo de la mitosis.

Fase M
Período del ciclo celular eucarionte durante el cual se dividen el núcleo y el citoplasma.

Fase S
Período del ciclo de una célula eucarionte en el cual se sintetiza el DNA.

Fecundación
Secuencia de acontecimientos que comienza cuando un espermatozoide establece contacto con un gameto femenino maduro y determina su fusión y posterior desarrollo.

Fenotipo
Carácter observable de una célula u organismo.

Fermentación
Fragmentación de moléculas orgánicas sin la participación de oxígeno molecular. La oxidación es menos compleja que en los procesos aerobios y produce menos energía.

Fibroblasto
Tipo celular común hallado en el tejido conectivo que secreta una matriz extracelular rica en colágeno y otras macromoléculas de la matriz extracelular. Migra y prolifera con facilidad en tejido dañado y en histocultivo.

Fibronectina
Proteína de la matriz extracelular que se une a integrinas de la superficie celular y ayuda a las células a adherirse a la matriz.

Fijación de carbono
Proceso por el cual las plantas verdes incorporan átomos de carbono del dióxido de carbono atmosférico a los azúcares. Segunda etapa de la fotosíntesis.

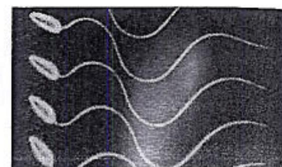
Fijación de nitrógeno
Conversión del nitrógeno de la atmósfera en moléculas orgánicas que contienen nitrógeno por bacterias del suelo y cianobacterias.

Filamento de actina

Filamento proteico, de unos 7 nm de ancho, formado a partir de una cadena de moléculas de actina globular. Se trata de un componente fundamental del citoesqueleto de todas las células eucariontes, especialmente abundante en las células musculares.

Filamento intermedio
Filamento proteico fibroso (de alrededor de 10 nm de diámetro) que forma redes similares a cuerdas en las células animales. Con frecuencia se lo utiliza como elemento estructural que resiste la tensión aplicada a la célula desde el exterior.

Filopodio
Extensión larga y delgada que contiene actina y que se localiza sobre la superficie de una célula animal. A veces tiene una función exploratoria, como en el cono de crecimiento.

Flagelo

Protrusión alargada parecida a un látigo que impulsa a una célula a través de un medio líquido mediante su movimiento. Los flagelos de la célula eucarionte son versiones más largas de los cilios; los flagelos de las bacterias, completamente diferentes, son más pequeños y de construcción más simple.

Fosfatidilcolina
Fosfolípido común presente en abundancia en la mayor parte de las membranas biológicas. (*Véase* Fig. 11-6).

Fosfoinositida 3-cinasa (PI 3-cinasa)
Enzima que fosforila fosfolípidos de inositol de la membrana plasmática en respuesta a señales recibidas por una célula. Los lípidos fosforilados se convierten en sitios de acoplamiento para proteínas de señalización intracelulares.

Fosfolipasa C
Enzima asociada con la membrana plasmática que lleva a cabo un paso crucial en la vía de señalización del fosfolípido inositol.

Fosfolípido

Tipo de molécula lipídica de las membranas biológicas. Por lo general, está compuesta por dos ácidos grasos unidos a través de glicerol fosfato a una variedad de grupos polares.

Fosfolípidos de inositol (fosfoinositidos)
Componentes lipídicos menores de las membranas plasmáticas que contienen derivados fosforilados de inositol que son importantes tanto para distinguir diferentes membranas intracelulares como para la transducción de señales en las células eucariontes.

Fosforilación oxidativa
Proceso observado en bacterias y mitocondrias en el que la formación del ATP es dirigida por la transferencia de electrones de las moléculas de los alimentos al oxígeno molecular. Implica la generación intermedia de un gradiente de pH a través de la membrana y un acoplamiento quimiosmótico.

Fosforilación proteica
Agregado covalente de un grupo fosfato a una cadena lateral de una proteína catalizado por una proteincinasa. Por lo general, la fosforilación modifica de alguna manera la actividad o las propiedades de la proteína.

Fosforilación: *véase* **Fosforilación proteica**.

Fotofosforilación cíclica
Proceso fotosintético en el que sólo interviene el fotosistema I por medio del cual los cloroplastos pueden generar ATP sin fabricar NADPH.

Fotosíntesis
Proceso por el cual las plantas y algunas bacterias utilizan la energía de la luz solar lo que impulsa la síntesis de moléculas orgánicas a partir de dióxido de carbono y agua.

Fotosistema
Gran complejo multiproteico que contiene clorofila, que captura energía lumínica.

Fragmento de Okazaki
DNA de corta longitud producido en la cadena retrasada durante la replicación del DNA. Estos fragmentos son unidos rápidamente por la DNA ligasa formando una cadena continua de DNA.

Fragmoplasto
Estructura compuesta por microtúbulos y vesículas de membrana que se forma en la región ecuatorial de una célula vegetal en división y a partir de la cual se fabricará la membrana que divide a las células hijas.

Fuerza de van der Waals
Fuerza de atracción debida a las cargas eléctricas fluctuantes que actúan entre dos átomos que se encuentran a 0,3 - 0,4 nm de distancia. A una distancia más corta, comienzan a operar las fuerzas repulsivas.

G, ΔG, ΔG^o: *véase* **Energía libre, Cambio de energía libre.**

GAG: *véase* **Glucosaminoglucano.**

Gameto: *véase* **Célula germinal.**

GDP (guanosina 5'-difosfato)
Nucleótido producido por la hidrólisis del fosfato terminal del GTP, una reacción que también produce fosfato inorgánico. El GDP, cuando está libre en solución, vuelve a ser fosforilado con rapidez a GTP, en general por la transferencia del fosfato terminal del ATP en la reacción, ATP + GDP → ADP + GTP.

Gen homólogo: *véase* **Homólogos.**

Gen indicador
Gen introducido que codifica una proteína cuya actividad es fácil de controlar experimentalmente. Por lo general, está unido a una secuencia reguladora, que después activa el gen indicador en el contexto normal en el que su propio gen suele ser expresado.

Gen
Región del DNA que controla una característica hereditaria definida de un organismo, habitualmente responsable de especificar una única proteína o molécula de RNA.

Gen supresor de tumores
Gen que en una célula de tejido normal inhibe el progreso a través del ciclo celular. La pérdida o la desactivación de ambas copias de ese gen en una célula diploide puede hacer que ésta se divida como una célula cancerosa.

Genética
Estudio de los genes de un organismo basado en la herencia y la variación.

Genoma
Información genética total contenida en una célula o en un organismo (o las moléculas de DNA que llevan esta información).

Genoteca de DNA
Colección de moléculas de DNA clonado que representan un genoma entero (genoteca genómica) o copias del mRNA producidas por una célula (genoteca de cDNA).

Genotipo
Grupo de genes presentes en una célula individual o en un organismo.

Glucógeno
Polisacárido compuesto exclusivamente por unidades de glucosa utilizadas para almacenar energía en las células animales. Los grandes gránulos de glucógeno son especialmente abundantes en las células hepáticas y musculares.

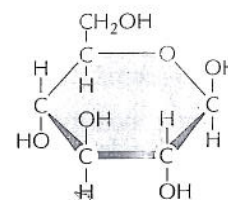
Glucolípido
Molécula lipídica de la membrana con una cadena corta hidrocarbonada unida a una cola hidrófoba.

Glucólisis
Vía metabólica que ocurre en el citosol en la que los azúcares son degradados en forma incompleta con producción de ATP. (Literalmente, "rotura de azúcares".)

Gluconeogénesis
Síntesis de glucosa a partir de moléculas orgánicas pequeñas, como ácido láctico, ácido pirúvico o aminoácidos.

Glucoproteína
Cualquier proteína con una o más cadenas de oligosacáridos unidas en forma covalente. Incluye la mayor parte de las proteínas secretadas y la mayor parte de las proteínas expuestas de la superficie externa de la membrana plasmática.

Glucosa
Azúcar de seis carbonos que desempeña un papel fundamental en el metabolismo de las células vivas. Es almacenada en forma polimérica como glucógeno en las células animales y como almidón en las células vegetales. (*Véase* Lámina 2-3, pp. 68-69).

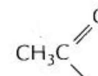


Glucosaminoglucano (GAG)
Familia de polisacáridos de alto peso molecular que contiene aminoazúcares; se los observa como cubiertas protectoras alrededor de células animales.

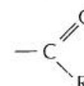
Gradiente electroquímico
Fuerza impulsora que determina que un ión se mueva a través de la membrana. Es causado por diferencias de la concentración de iones y de la carga eléctrica a cada lado de la membrana.

Grasas
Lípidos utilizados por las células vivas que almacenan energía metabólica. Están compuestos principalmente por triacilgliceroles. (*Véase* Lámina 2-4, pp. 70-71).

Grupo acetilo
Grupo químico derivado del ácido acético.



Grupo acilo
Grupo funcional derivado de un ácido carboxílico. (R representa un grupo alquilo: p. ej., metilo).



Grupo alquilo
Término general utilizado para designar a un grupo de átomos de carbono e hidrógeno ligados en forma covalente, como los grupos metilo ($-CH_3$) o etilo ($-CH_2CH_3$).

Grupo amino
Grupo funcional débilmente básico (–NH2) derivado del amoníaco. En solución acuosa, un grupo amino puede aceptar un protón y transportar una carga positiva. (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Grupo carbonilo
Par de átomos que consiste en un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno por un doble enlace. (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Grupo carboxilo
Átomo de carbono unido tanto a un átomo de oxígeno por un enlace doble como a un grupo hidroxilo. Las moléculas que contienen un grupo carboxilo son ácidos débiles (carboxílicos). (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Grupo metilo ($-CH_3$)
Grupo químico hidrófobo derivado del metano (CH_4). (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Grupo químico
Grupo de átomos unidos en forma covalente, como un grupo hidroxilo (–OH) o un grupo amino (–NH2), presente en muchas moléculas diferentes y cuyo comportamiento químico está bien caracterizado.

Grupo sulfhidrilo (-SH, tiol)
Grupo químico que contiene azufre e hidrógeno hallado en el aminoácido cisteína y otras moléculas. Dos grupos sulfhidrilo se pueden unir y formar un enlace disulfuro.

Grupo: ***véase*** **grupo químico.**

GTP (guanosina 5'-trifosfato)
Principal nucleótido trifosfato utilizado en la síntesis de RNA y en algunas reacciones de transferencia de energía. Desempeña un papel especial en el ensamblado de los microtúbulos, la síntesis de las proteínas y en la señalización celular.

GTPasa monomérica
Proteína de unión a GTP pequeña, de una sola subunidad. Las proteínas de esta familia, como Ras y Rho, forman parte de muchas vías de señalización diferentes.

Haploide
Célula u organismo con sólo un grupo de cromosomas, como un espermatozoide o una bacteria. (*Véase también* Diploide).

Hélice
Estructura alargada en la que un filamento o hebra se enrolla de un modo regular alrededor de un eje central.



Hélice alfa (hélice α)
Motivo estructural común de las proteínas en el que una secuencia lineal de aminoácidos se pliega en una hélice dextrógira estabilizada por enlaces de hidrógeno internos entre átomos del esqueleto de la cadena.

Hemidesmosoma
Unión celular de anclaje especializada entre una célula epitelial y la lámina basal subyacente.

Herencia epigenética
Herencia que se sobreagrega a la información heredada en la secuencia de DNA propiamente dicha. En general, información en forma de un tipo particular de estructura cromatínica (p. ej., un determinado patrón de modificación de histonas o de metilación del DNA).

Herencia
Transmisión de una generación a la otra de los factores genéticos que determinan las características individuales. Responsable de las semejanzas entre los progenitores y los hijos.

Heterocigoto
Término que designa a un organismo con alelos distintos para un gen dado.

Heterocromatina
Región de un cromosoma que se mantiene inusitadamente condensada e inactiva desde el punto de vista de la transcripción durante la interfase.

Hibridación *in situ*
Técnica en la que se utiliza una sonda de RNA o de DNA monocatenario para localizar un gen o una molécula de mRNA en toda una célula o tejido.

Hibridación
Proceso experimental en el cual dos cadenas complementarias de ácido nucleico forman una doble hélice; una técnica muy útil para la detección de secuencias nucleotídicas específicas.

Hidrato de carbono (carbohidrato)
Término general para los azúcares y compuestos relacionados con la fórmula general $(CH_2O)_n$. (*Véase* Lámina 2-3, pp. 68-69).

Hidrófilo
Molécula polar o parte de ella que forma una cantidad de enlaces de hidrógeno con el agua suficiente para disolverse con facilidad en agua. (Literalmente, "amante del agua").

Hidrófobo
Molécula no polar o parte de ella que no puede formar enlaces favorables con las moléculas de agua y, por lo tanto, no se disuelve en agua. (Literalmente, "que odia el agua").

Hidrólisis (adjetivo hidrolítico)
Ruptura de una unión covalente acompañada del agregado de agua; se agrega –H a un producto de la fragmentación, y –OH, al otro).

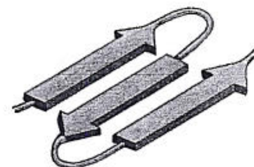
Hidroxilo (-OH)
Grupo químico que consiste en un átomo de hidrógeno unido a un átomo de oxígeno, como en un alcohol. (*Véase* Lámina 2-1, pp. 64-65).

Histona desacetilasa
Enzima que elimina los grupos acetilo de las lisinas presentes en las histonas; el estado de acetilación de las histonas actúa como una señal que atrae a otras proteínas que activan o reprimen la transcripción.

Histona
Una de un grupo de proteínas básicas abundantes, ricas en arginina y lisina, que se asocian con el DNA en los cromosomas y forman nucleosomas.

Hoja β: *véase* **Hoja beta.**

Hoja beta (hoja β)
Patrón de plegamiento que se encuentra en muchas proteínas en el que las regiones vecinas de la cadena polipeptídica se asocian entre sí a través de enlaces de hidrógeno dando origen a una estructura rígida aplanada.



Homocigoto
Término que describe a un organismo que tiene alelos idénticos para un gen determinado.

Homólogo
(1) *Véase* **Cromosoma homólogo.** (2) Cualquier estructura o macromolécula que guarda una estrecha similitud con otra como consecuencia de una ascendencia común.

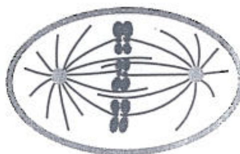
Homólogos
Describe órganos o moléculas que son semejantes debido a su origen evolutivo común. Describe específicamente semejanzas en las secuencias de proteínas o de ácido nucleico.

Hormona esteroide
Molécula lipófila relacionada con el colesterol que actúa como hormona; p. ej., estrógeno y testosterona.

Hormona
Sustancia química producida por un grupo de células de un organismo multicelular y transportada por líquidos orgánicos a tejidos diana sobre los que ejerce un efecto específico.

Horquilla de replicación
Región en forma de Y de una molécula de DNA que se está replicando en la que se forman y separan las dos cadenas hijas.

Huso mitótico
Organización de microtúbulos y moléculas asociadas que se forma entre los polos opuestos de una célula eucarionte durante la mitosis, que separa a los cromosomas duplicados.



In vitro
Término utilizado por los bioquímicos para describir un proceso que tiene lugar en un extracto aislado de células libres. También es utilizado por los biólogos celulares para referirse a las células que crecen en cultivo (in vitro), en oposición a las que crecen en un organismo (in vivo). (En latín significa "en el vidrio").

In vivo
En una célula o un organismo intactos. (En latín significa "en vida").

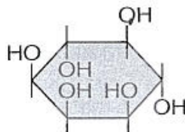
Inestabilidad dinámica
Propiedad de los microtúbulos de crecer y acortarse repetidamente mediante el agregado y la pérdida de subunidades de tubulina desde sus extremos expuestos.

Inestabilidad genética
Aumento de la tasa de mutaciones observada, por ejemplo, en las células cancerosas, que se debe a la presencia de mutaciones que interfieren con la replicación y el mantenimiento correcto del genoma.

Ingeniería genética: *véase* **Tecnología de DNA recombinante**.

Inhibición por retroalimentación
Forma de control metabólico en la que el producto final de una cadena de reacciones enzimáticas reduce la actividad de una enzima temprana de la vía.

Inositol
Molécula de azúcar con seis grupos hidroxilo que forma la estructura de los fosfolípidos de inositol.



Inositol 1,4,5-trifosfato (IP3)
Pequeña molécula de señalización intracelular producida durante la activación de la vía de señalización de los fosfolípidos de inositol que libera Ca^{2+} del retículo endoplasmático.

Insaturado
Describe una molécula que contiene uno o más enlaces dobles o triples carbono-carbono.

Integrina
Familia de proteínas transmembrana presente en las superficies celulares, que permiten que las células se adhieran entre sí y a la matriz extracelular, y que también participan en la señalización celular.

Interfase
Período prolongado del ciclo celular entre una mitosis y la siguiente. Incluye la fase G_1, la fase S y la fase G_2.

Interferencia por RNA (RNAi, ribointerferencia)
Mecanismo celular activado por moléculas bicatenarias de RNA que causa la destrucción de RNA que contienen una secuencia nucleotídica similar. Es ampliamente aprovechado como instrumento experimental para prevenir la expresión de determinados genes (silenciamiento génico).

Interruptor molecular
Proteína o complejo proteico que opera en una vía de señalización intracelular y que puede cambiar en forma reversible entre un estado activo e inactivo.

Intrón
Región no codificadora de un gen eucarionte que es transcripta en una molécula de RNA, pero que luego es escindida por el corte y empalme del RNA al producir mRNA.

Ión
Átomo que tiene una carga eléctrica positiva o negativa.

Ión hidrógeno
Término utilizado con frecuencia para aludir a un protón (H^+) en solución acuosa, la base de la acidez. Como el protón se combina rápidamente con una molécula de agua formando H_3O^+ es más correcto denominarlo ión hidronio. (*Véase* Lámina 2-2, pp. 66-67).

Ión hidronio (H_3O^+)
Forma que adquiere un protón (H^+) en solución acuosa. (*Véase* Lámina 2-2, pp. 66-67).

IP_3: *véase* **Inositol 1,4,5-trifosfato**.

Isómero (estereoisómero)
Una de dos o más sustancias que contienen los mismos átomos y que tienen la misma fórmula molecular (p. ej., $C_6H_{12}O_6$), pero que difieren en la disposición espacial de esos átomos. Los isómeros ópticos difieren sólo por ser imágenes especulares uno del otro.

Isótopos
Dos o más formas de un átomo que tienen la misma estructura química, pero difieren en el peso atómico. Pueden ser estables o radiactivos.

K: *véase* **Constante de equilibrio**.

K^+
Ión potasio, un componente iónico importante de las células vivas.

Kilocaloría (kcal)
Unidad de calor igual a 1.000 calorías. Con frecuencia se la utiliza para expresar la energía contenida en los alimentos o las moléculas: la fuerza de los enlaces, por ejemplo, se mide en kcal/mol. Una unidad alternativa de uso frecuente es el kilojoule.

Kilojoule (kJ)
Unidad estándar de energía igual a 0,239 kilocalorías.

K_M
Concentración de sustrato en la que una enzima actúa a la mitad de su velocidad máxima. Los grandes valores de K_M suelen indicar que la enzima se une a su sustrato con una afinidad relativamente baja.

Lamelipodio
Extensión dinámica a modo de lámina sobre la superficie de una célula animal, especialmente de aquella que migra sobre una superficie.

Lámina basal
Capa delgada de matriz extracelular que separa las capas epiteliales y muchos tipos de células, como células musculares o células adiposas, del tejido conectivo. A veces se la denomina membrana basal.

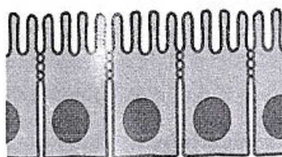
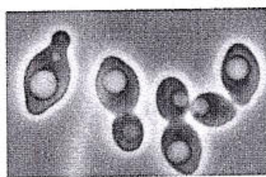


Lámina nuclear
Capa fibrosa de la superficie interna de la membrana nuclear interna formada por una red de filamentos intermedios.

Levadura
Nombre común de varias familias de hongos unicelulares (células eucariontes utilizadas como organismos modelo). Incluye especies usadas para la elaboración de la cerveza y el pan, así como especies que causan enfermedades.



Ley de la segregación independiente
La segunda ley de la herencia, establecida por Mendel, que sostiene que, durante la formación de los gametos, los alelos para los diferentes rasgos se segregan independientemente uno del otro.

Ley de la segregación
La primera ley de la herencia, establecida por Mendel, que sostiene que los alelos maternos y paternos para un rasgo se separan uno del otro durante la formación del gameto y después se reúnen durante la fecundación.

Ligando
Término general para designar a una molécula que se une a un sitio específico de una proteína.

Ligasa
Enzima que une dos cadenas de DNA por sus extremos.

Línea celular
Población de células de origen vegetal o animal capaz de dividirse indefinidamente en cultivo.

Línea germinal
Linaje de células reproductoras que contribuye a la formación de una nueva generación de organismos, distintas de las células somáticas, que forman el cuerpo y no dejan descendientes en la siguiente generación.

Linfocito
Leucocito que media la respuesta inmunitaria a una molécula extraña (un antígeno). Los linfocitos son del tipo B, secretores de anticuerpos, o del tipo T, que regula las respuestas y también forma el sistema de respuesta inmunitaria mediado por células.

Lípido
Molécula orgánica que es insoluble en agua pero que se disuelve con rapidez en solventes orgánicos no polares. Una clase, los fosfolípidos, forma la base estructural de las membranas biológicas.

Lisosoma
Orgánulo intracelular rodeado de membrana que contiene enzimas digestivas, en general aquellas que son más activas en el pH ácido de estos orgánulos.

Longitud de un enlace
Distancia entre dos átomos de una molécula, en general aquellos unidos por un enlace covalente.

Luz
Cavidad delimitada por una lámina epitelial (en un tejido) o por una membrana (en una célula), como la luz del retículo endoplasmático. (Del latín *lumen*, que significa luz o abertura).

Macrófago
Célula hallada en tejidos animales especializada en la captación de partículas por fagocitosis; derivada de un tipo de leucocito.

Macromolécula
Molécula como una proteína, un ácido nucleico, o un polisacárido con una masa molecular superior a algunos miles de daltons. (Del griego *makros*, que significa grande.)

Mapa genético
Representación gráfica del orden de los genes en los cromosomas, espaciados de acuerdo con el grado de recombinación que se produce entre ellos.

MAP-cinasa
Proteincinasa activada por mitógeno. Proteincinasa que cumple un paso clave en la transmisión de señales desde los receptores de la superficie celular hacia el núcleo. Es la cinasa final de la secuencia de tres cinasas denominada cascada de MAP-cinasa.

Maquinaria proteica
Grupo de moléculas proteicas que se unen entre sí en formas específicas, de modo que los movimientos coordinados dentro del complejo proteico pueden llevar a cabo una secuencia de reacciones con una velocidad y una eficacia inusuales. Numerosas reacciones centrales de la célula son catalizadas por estas maquinarias proteicas, y la síntesis de proteínas y la replicación de DNA son ejemplos particularmente bien conocidos.

Marco de lectura
Grupo de tripletes sucesivos en los que una cadena simple de nucleótidos es traducida a proteína. Una molécula de mRNA es leída en uno de tres marcos de lectura posible, según el punto de partida.

Matriz
En términos generales, un espacio dentro del cual se forma algo. En biología celular, esta palabra con frecuencia se refiere al gran compartimiento interno de la mitocondria. La matriz mitocondrial contiene una mezcla concentrada de enzimas especiales que catalizan reacciones de oxidación, así como el genoma mitocondrial y las proteínas necesarias para expresar los genes mitocondriales. (*Véase* Fig. 14-4).

Matriz extracelular
Compleja red de polisacáridos (como los glucosaminoglucanos o la celulosa) y proteínas (como el colágeno) secretados por las células. Componente estructural de los tejidos que también influye en su desarrollo y su fisiología.

M-ciclina
Proteína ciclina que se une a la Cdk mitótica formando Cdk de M al comienzo de la fase M del ciclo celular.

Mediador local
Molécula señalizadora secretada que actúa a corta distancia sobre las células adyacentes.

Meiosis
Tipo especial de división celular que da origen al gameto femenino maduro y al espermatozoide. Dos divisiones nucleares sucesivas con sólo una ronda de replicación del DNA generan cuatro células hijas haploides a partir de una célula diploide inicial. (Del griego *meiosis*, que significa disminución).

Membrana
Delgada lámina de moléculas lipídicas y proteínas asociadas que rodea a todas las células y forma los límites de muchos orgánulos de las células eucariontes.

Membrana plasmática
Membrana que rodea a una célula viva.

Memoria celular
Capacidad de las células y de sus descendientes para, sin experimentar ningún cambio en su secuencia de DNA, retener un vestigio de los efectos de influencias pasadas y mostrar las consecuencias en patrones de expresión génica con alteraciones persistentes.

Metabolismo
Suma total de las reacciones químicas que tienen lugar en las células de un organismo vivo y que determina el crecimiento, la división, la producción de energía, la excreción de desechos, etcétera.

Metafase
Estadio de la mitosis en el que los cromosomas están firmemente unidos al huso mitótico en su ecuador pero todavía no se han segregado hacia los polos opuestos.

Metástasis
Propagación de células cancerosas por todo el cuerpo a partir del sitio inicial del tumor.

Metilación del DNA
Agregado enzimático de grupos metilo a bases citosina del DNA. La metilación suele desactivar genes al atraer proteínas que bloquean la expresión génica.



Método didesoxi de secuenciación del DNA
Método convencional de secuenciación del DNA. Se basa en el empleo de DNA polimerasas y nucleótidos de terminación de la cadena.

Micro-
Prefijo que denota 10^{-6}.

Microfotografía
Fotografía tomada a través de un microscopio. Según el tipo de microscopio utilizado puede ser una microfotografía óptica o una microfotografía electrónica.

Micromatriz de DNA
Portaobjetos de vidrio sobre el cual se ha inmovilizado en un patrón ordenado un gran número (por lo general, decenas o miles) de moléculas cortas de DNA. Cada uno de esos fragmentos de DNA actúa como una sonda para un gen específico, lo que permite estudiar al mismo tiempo los productos de RNA de miles de genes.

Micrómetro (μm)
Unidad de medida utilizada con frecuencia para las células y los orgánulos. Equivale a 10^{-6} metros o a 10^{-4} centímetros.

Micro-RNA (miRNA)
RNA pequeños no codificadores que controlan la expresión génica por apareamiento de bases con mRNA específicos para regular su estabilidad y traducción.

Microscopio
Instrumento para observar objetos extremadamente pequeños. Un microscopio óptico utiliza un rayo enfocado de luz visible y se utiliza para examinar células y orgánulos. Un microscopio electrónico utiliza un haz de electrones y puede ser utilizado para examinar objetos tan pequeños como moléculas individuales.

Microtúbulo
Estructura larga, rígida y cilíndrica compuesta por la proteína tubulina. Las células eucariontes utilizan los microtúbulos para regular su forma y controlar sus movimientos.



Migración celular (locomoción celular)
Movimiento activo de una célula de una localización a otra.

Mili-
Prefijo que denota 10^{-3}.

Miofibrilla
Haz largo y altamente organizado de actina, miosina y otras proteínas del citoplasma de las células musculares que se contrae por un mecanismo de deslizamiento de filamentos.

Miosina
Tipo de proteína motora que utiliza ATP para impulsar movimientos a lo largo de los filamentos de actina. La miosina II es una proteína de gran tamaño que forma los filamentos gruesos del músculo esquelético. Las miosinas más pequeñas, como la miosina I, están ampliamente distribuidas y son responsables de muchos movimientos basados en actina.

Mitocondria
Orgánulo delimitado por membrana, casi del tamaño de una bacteria, que realiza la fosforilación oxidativa y produce la mayor parte del ATP en las células eucariontes.



Mitógeno
Molécula de señalización extracelular que estimula la proliferación celular.

Mitosis
División del núcleo de una célula eucarionte, que implica la condensación del DNA en cromosomas visibles. (Del griego *mitos*, hilo, que se refiere al aspecto filiforme de los cromosomas condensados).

Mol
M gramos de una sustancia, en donde *M* es su masa molecular relativa (peso molecular); será de 6×10^{23} moléculas de la sustancia.

Molde, plantilla
Estructura molecular que actúa como patrón en la producción de otras moléculas. Por lo tanto, una secuencia específica de nucleótidos del DNA puede actuar de molde dirigiendo la síntesis de una nueva cadena de DNA complementario.

Molécula de señal extracelular
Cualquier molécula presente fuera de la célula que puede provocar una respuesta intracelular cuando se une a un receptor. Algunas moléculas de señal, como las hormonas esteroides, pueden ingresar en la célula y actuar sobre receptores internos, mientras que otras, como las proteínas, actúan en receptores incluidos en la membrana plasmática y expuestos en la superficie celular.

Molécula de señalización intracelular
Molécula (en general, una proteína) que forma parte del mecanismo de transducción y transmisión de señales dentro de una célula.

Molécula
Grupo de átomos unidos por enlaces covalentes.

Monómero
Pequeña molécula que se puede unir a otras del mismo tipo y formar una molécula más grande (polímero).

mRNA: *véase* **RNA mensajero**.

Muerte celular programada: *véase* **apoptosis.**

Mutación
Cambio heredable producido al azar en la secuencia de nucleótidos de un cromosoma.

Mutación de ganancia de función
Mutación que aumenta la actividad de un gen o lo activa en circunstancias inapropiadas; estas mutaciones suelen ser dominantes.

Mutación de pérdida de función
Mutación que reduce o elimina la actividad de un gen. Estas mutaciones suelen ser recesivas: el organismo puede funcionar normalmente porque conserva al menos una copia normal del gen afectado.

Mutación puntiforme
Cambio de un solo par de nucleótidos de una secuencia de DNA.

Mutagénesis dirigida al sitio
Técnica por la que se puede provocar una mutación en un sitio particular del DNA.

Na^+
Ión sodio, un componente iónico importante de las de las células vivas.

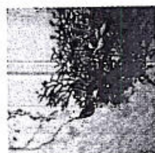
NAD^+ (nicotina adenina dinucleótido)
Molécula transportadora activada que participa en una reacción de oxidación al aceptar un ión hidruro (H^-) de una molécula donante, lo que produce NADH. Utilizado con frecuencia en la degradación de moléculas de azúcar que produce energía. (*Véase* Fig. 3-34).

NADPH (nicotina adenina dinucleótido fosfato)
Molécula transportadora estrechamente relacionada con NADH utilizada como donante de electrones en las vías biosintéticas. En el proceso, es oxidada a $NADP^+$. (*Véase* Fig. 3-35).

Nanómetro (nm)
Unidad de longitud utilizada con frecuencia para medir moléculas y orgánulos celulares. 1 nm = 10^{-3} μm = 10^{-9} m.

Terminación nerviosa
Extremo de un axón desde el que se envían señales a las células adyacentes, habitualmente en una sinapsis.

Neurona (célula nerviosa)
Célula con largas ramificaciones especializadas en recibir, conducir y transmitir señales en el sistema nervioso.



Neurotransmisor
Pequeña molécula de señalización secretada por una célula nerviosa en una sinapsis química que transmite la señal a la célula postsináptica; p. ej: acetilcolina, ácido glutámico, GABA y glicina.

No polar
Se dice de una molécula que carece de cualquier acumulación local de cargas positivas o negativas. Por lo general, las moléculas no polares son insolubles en agua.

NO: *véase* **Óxido nítrico.**

N-terminal
El extremo de una cadena polipeptídica que porta un grupo amino libre.

Nucleasa de restricción (enzima de restricción)



Nucleasa que puede romper una molécula de DNA en cualquier sitio en el que haya una secuencia corta específica de nucleótidos. Distintas nucleasas de restricción cortan en diferentes secuencias. Muy utilizada en la tecnología de DNA recombinante.

Núcleo
El principal orgánulo de una célula eucarionte, que contiene DNA organizado en cromosomas. Asimismo, cuando se refiere a un átomo, la masa central formada por neutrones y protones.

Nucléolo
Estructura del núcleo en la que se transcribe el RNA ribosómico y se ensamblan las subunidades ribosómicas.

Nucleósido
Compuesto formado por una base de purina o de pirimidina unida a un azúcar de ribosa o de desoxirribosa. (*Véase* Lámina 2-6, pp. 74-75).

Nucleosoma



Unidad estructural de un cromosoma eucarionte similar a las cuentas de un collar compuesta por un segmento corto de DNA enrollado alrededor de un centro de histonas; la subunidad fundamental de la cromatina.

Nucleótido
Nucleósido con uno o más grupos fosfato unidos por un enlace éster a la mitad de azúcar. El DNA y el RNA son polímeros de nucleótidos.

Número de Avogadro
Número de moléculas de una cantidad de sustancia igual a su peso molecular en gramos. Aproximadamente 6×10^{23}.

Número de recambio
En la catálisis enzimática, número de moléculas de sustrato procesadas por segundo por molécula de enzima. Diferentes tipos de enzimas pueden tener números de recambio muy distintos, pero es bastante común que éstos sean de 1.000 o más, un reflejo del impresionante poder catalítico de las enzimas.

Oligo-
Prefijo que denota un polímero corto (oligómero). Puede ser de aminoácidos (oligopéptido), de azúcares (oligosacárido) o de nucleótidos (oligonucleótidos). (Del griego *oligos*, que significa poco o muy poco).

Oncogén
Cualquier gen activado en forma anormal que puede transformar una célula en cancerosa. Por lo general, una forma mutante de un gen normal (protoncogén) que participa en el control del crecimiento o la división celular.

Organismo modelo
Organismo seleccionado para estudio intensivo como representativo de un grupo grande de especies; p. ej.: el ratón (que representa a los mamíferos), la levadura *Saccharomyces cere-*

visiae (que representa a los eucariontes unicelulares) y *Escherichia coli* (que representa a las bacterias).

Organismo transgénico
Planta o animal que ha incorporado en forma estable uno o más genes de otra célula u organismo y que puede pasarlos a las generaciones sucesivas.

Orgánulo delimitado por membrana
Cualquier orgánulo de la célula eucarionte rodeado por una membrana de bicapa lipídica: p. ej., el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi y el lisosoma.

Orgánulo
Estructura o subcompartimiento definido de una célula eucarionte (en especial, uno visible con el microscopio óptico) especializado en realizar una función particular; p. ej., mitocondrias y complejo de Golgi.

Ósmosis
Movimiento neto de moléculas de agua a través de una membrana semipermeable impulsado por una diferencia en la concentración de solutos a uno y otro lado. La membrana debe ser permeable al agua pero no a las moléculas de solutos.

Oxidación
Pérdida de la densidad de electrones de un átomo, como sucede durante el agregado de oxígeno a un átomo de carbono o cuando se elimina hidrógeno de un átomo de carbono. Lo opuesto a la reducción. (*Véase* Fig. 3-11).

Óxido nítrico (NO)
Pequeña molécula muy difusiva ampliamente utilizada como señal intracelular.

p53
Proteína reguladora que responde a la presencia de daño del DNA e impide que la célula ingrese en la fase S hasta que el daño haya sido reparado.

Par de bases
Dos nucleótidos de una molécula de RNA o de DNA que están apareados específicamente por enlaces de hidrógeno: p. ej., G con C y A con T o U.

Par redox
Par de moléculas en el que una actúa como donante de electrones y la otra como aceptor de electrones en una reacción de oxidorreducción: p. ej., el NADH (donante de electrones) y el NAD^+ (aceptor de electrones).

Pared celular
Capa fibrosa mecánicamente resistente depositada por una célula en el exterior de su membrana plasmática. Es prominente en la mayoría de las plantas, las bacterias, las algas y los hongos, pero está ausente en la mayoría de las células animales.

Partícula ribonucleoproteica nuclear pequeña (snRNP)
Unidad estructural de un empalmosoma formada por RNA y proteína.

PCR: *véase* **Reacción en cadena de la polimerasa.**

Pedigrí
Genealogía o linaje de un animal individual.

Pequeño mensajero: *véase* **segundo mensajero.**

RNA nuclear pequeño
Moléculas de RNA de aproximadamente 200 nucleótidos involucradas en el corte y empalme de RNA.

Peroxisoma
Pequeño orgánulo delimitado por membrana que utiliza oxígeno molecular oxidando moléculas orgánicas. Contiene algunas enzimas que producen peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y otras que lo degradan.

Peso atómico
Masa de un átomo expresada en daltons.

Peso molecular
Masa de una molécula expresada en daltons.

Pinocitosis
Tipo de endocitosis en el que los materiales solubles son captados del ambiente e incorporados a vesículas para su digestión. (Literalmente, "emborrachamiento celular").

Pirimidina
Una de las dos categorías de compuestos anulares que contienen nitrógeno hallados en el DNA y en el RNA; p. ej., citosina. (*Véase* Lámina 2-6, pp. 74-75).

PKA: *véase* **Proteincinasa C.**



Plásmido
Pequeña molécula de DNA circular que se replica independientemente del genoma. Los plásmidos son muy utilizados como vectores para la clonación del DNA.

Plasmodesmo
Unión intercelular de las plantas en la que un canal de citoplasma revestido de membrana conecta a dos células adyacentes a través de un pequeño poro en sus paredes celulares.

Polar
Término que alude a una molécula, o a un enlace covalente de una molécula, en la que los electrones entrelazados son atraídos con mayor fuerza por átomos específicos, lo que crea una distribución irregular (o polarizada) de la carga eléctrica.

Polaridad
Término que se refiere a una estructura del tipo de un filamento de actina o un óvulo fecundado que tiene una asimetría inherente, de modo que es posible distinguir un extremo del otro.

Polimerasa
Término general que se utiliza para designar a una enzima que cataliza el agregado de subunidades a un polímero. La DNA polimerasa, por ejemplo, produce DNA, y la RNA polimerasa, RNA.

Polímero
Molécula grande y habitualmente lineal compuesta por el ensamblado repetitivo, mediante uniones covalentes, de múltiples subunidades idénticas o similares (monómeros).

Polimorfismo
Caso en el que dos o más variantes (alelos) de un gen o variantes de una secuencia de DNA coexisten en la población, y ambas son relativamente comunes.

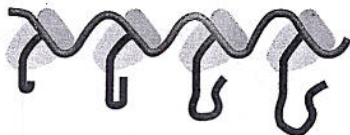
Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP)
Secuencias del genoma que difieren por un solo nucleótido entre una parte de la población y otra.

Polinucleótido
Cadena molecular de nucleótidos unidos químicamente por una serie de enlaces fosfodiéster. Una cadena de RNA o de DNA.

Polipéptido, cadena polipeptídica
Polímero lineal compuesto por múltiples aminoácidos. Las proteínas están formadas por una o más cadenas polipeptídicas largas.

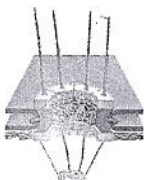
Polisacárido
Polímero lineal o ramificado compuesto por azúcares; p. ej., glucógeno, ácido hialurónico y celulosa.

Polisoma (polirribosoma)
Molécula de RNA mensajero con ribosomas unidos que se ocupa de la síntesis proteica.



Polo del huso
Uno de los dos centrosomas de una célula que experimenta mitosis. Los microtúbulos que irradian desde estos centrosomas forman el huso mitótico.

Poro nuclear
Canal a través de la envoltura nuclear que permite el desplazamiento de determinadas moléculas entre el núcleo y el citoplasma.



Potenciador, amplificador
Secuencia de DNA reguladora a la que se unen los reguladores de la transcripción y que incide en la velocidad de transcripción de un gen estructural que puede estar a muchos miles de pares de bases de distancia.

Potencial de acción
Señal eléctrica rápida y transitoria, que se autopropaga en la membrana plasmática de una célula, como una neurona o una célula muscular. Un impulso nervioso.

Potencial de membrana
Diferencia de voltaje a través de una membrana, debido a un leve exceso de iones positivos de un lado y de iones negativos del otro. Un potencial de membrana típico de la membrana plasmática de una célula animal es de –60 mV (interior negativo), medido respecto del líquido circundante.

Potencial redox
En un sistema dado, parámetro de la tendencia a donar electrones (actuar como un agente reductor) o a aceptar electrones (actuar como un agente oxidante).

Presión osmótica
Presión que debe ser ejercida sobre el lado de baja concentración de soluto de una membrana semipermeable que evita el flujo de agua a través de la membrana como resultado de la ósmosis.

Primer cebador
En la replicación del DNA, RNA de corta longitud producido al comienzo de un evento de síntesis de DNA catalizado por DNA polimerasa; estos cebadores de RNA después son eliminados y ocupados por DNA.

Procarionte
Categoría principal de las células vivas distinguida por la ausencia de un núcleo. Los procariontes comprenden las arqueas y las eubacterias (denominadas comúnmente bacterias), dos de los tres dominios de la vida.

Procesamiento del RNA
Término amplio que alude a las modificaciones que experimenta un RNA a medida que alcanza su forma madura. En el caso de un mRNA eucarionte, el procesamiento suele consistir en agregado de una caperuza o casquete, corte y empalme, y poliadenilación.

Procesivo
Describe a una proteína que realiza rondas reiteradas de catálisis o de cambios conformacionales mientras todavía está unida a un polímero. Una característica de las proteínas motoras involucradas en el transporte, como la cinesina.

Profase
Primer estadio de la mitosis durante el cual los cromosomas están condensados pero todavía no se han adherido al huso mitótico. Asimismo, un estadio similar de la meiosis.

Prometafase
Estadio de la mitosis que precede a la metafase.

Promotor
Secuencia de nucleótidos en el DNA a la que se une la RNA polimerasa y da comienzo a la transcripción.

Proteasa (proteinasa, enzima proteolítica)
Enzima, por ejemplo la tripsina, que degrada proteínas mediante la hidrólisis de algunos de sus enlaces peptídicos.

Proteína de membrana
Proteína asociada con una bicapa lipídica; puede ser integral (transmembrana) o periférica.

Proteína de transporte de membrana
Cualquier proteína incluida en una membrana que actúa como transportador de iones o de pequeñas moléculas de un lado al otro.

Proteína de unión a GTP
Proteína alostérica cuya conformación y actividad están determinadas por sus asociaciones tanto con GTP como con DGP. Incluye varias proteínas involucradas en la señalización celular como Ras y proteínas G.

Proteína
El principal constituyente macromolecular de las células. Cada proteína está compuesta por una o más cadenas lineales de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos en una secuencia específica. La cadena de aminoácidos se pliega en una forma tridimensional que es privativa de esa proteína y determina su función.

Proteína fibrosa
Proteína de forma alargada. Por lo general, una proteína como la del colágeno o del filamento intermedio que puede asociarse en estructuras filamentosas largas.

Proteína fluorescente verde (GFP)
Proteína fluorescente (obtenida de una medusa) que se utiliza ampliamente como marcador para estudiar los movimientos de las proteínas en las células vivas.

Proteína fosfatasa (fosfoproteína fosfatasa)
Enzima que elimina por hidrólisis un grupo fosfato de una proteína, con frecuencia con alta especificidad para el sitio fosforilado.

Proteína G
Una de una gran familia de proteínas de unión a GTP compuesta por tres subunidades diferentes (proteínas heterotriméricas de unión a GTP) que son intermediarios importantes en las vías de señalización intracelular. Por lo general, son activadas por la unión de una hormona u otro ligando a un receptor transmembrana.

Proteína globular
Cualquier proteína con una forma aproximadamente redondeada. La mayor parte de las enzimas son globulares.

Proteína inhibidora de Cdk
Proteína que inhibe el complejo Cdk-ciclina, en primer lugar inhibiendo que la célula atraviese las fases G_1 y S del ciclo celular.

Proteína motora
Proteína del tipo de la miosina o la cinesina que utiliza energía derivada de la hidrólisis del ATP para impulsarse a lo largo de un filamento proteico o de una molécula polimérica.

Proteína Rab
Familia de pequeñas proteínas de unión a GTP presentes en las superficies de las vesículas de transporte y orgánulos, que actúan como marcadores moleculares que identifican cada tipo de membrana. Las proteínas Rab ayudan a garantizar que las vesículas de transporte se fusionen sólo con la membrana correcta.

Proteína receptora
Proteína que detecta un estímulo, en general un cambio de concentración de una molécula específica, y luego inicia una respuesta en la célula. Los receptores de la superficie celular, como el receptor de acetilcolina y el de insulina, se localizan en la membrana celular con el sitio de unión al ligando expuesto al medio externo. Los receptores intracelulares, como los receptores de hormonas esteroides, se unen a ligandos que se difunden hacia el interior de la célula a través de la membrana plasmática.

Proteína Wnt
Miembro de la familia Wnt de proteínas de señalización extracelulares que desempeña muchas funciones tanto en el desarrollo como en el mantenimiento de las células madre en un estado de proliferación.

Proteincinasa
Una de un gran número de enzimas que transfiere el grupo fosfato terminal del ATP a una cadena lateral aminoacídica específica de una proteína diana.

Proteincinasa A: *véase* **Proteincinasa dependiente de AMP cíclico.**

Proteincinasa C (PKC)
Enzima que fosforila las proteínas diana en respuesta a un aumento de la concentración de diacilglicerol y de iones Ca^{2+}.

Proteincinasa dependiente de Ca^{2+} y calmodulina (cinasa CaM)
Enzima que fosforila las proteínas diana en respuesta al incremento de iones Ca^{2+} mediante su interacción con la proteína calmodulina fijadora de Ca^{2+}.

Proteincinasa dependiente de la ciclina (Cdk)
Proteincinasa que debe formar un complejo con una ciclina para poder actuar. Distintos complejos ciclina-Cdk desencadenan diferentes etapas del ciclo de división celular por fosforilación de proteínas diana específicas.

Proteincinasa dependiente del AMP cíclico (proteincinasa A, PKA)
Enzima que fosforila proteínas diana en respuesta a un aumento de AMP cíclico intracelular.

Proteoglucano
Molécula formada por una o más cadenas de glucosaminoglucanos (GAG) unidas a una proteína central.

Proteólisis
Degradación de una proteína por medio de una proteasa.

Proteómica
Estudio a gran escala de proteínas que investiga simultáneamente muchas proteínas diferentes de una célula o de un tejido.

Proteasoma

Gran complejo proteico presente en el citosol que es responsable de la degradación de las proteínas citosólicas que han sido marcadas para la destrucción por la ubicuitinación o por algún otro medio.

Protón
Partícula subatómica que se encuentra en el núcleo atómico. También existe como especie química independiente como el ión hidrógeno positivo (H^+).

Protoncogén: *véase* **Oncogén.**

Protozoo
Un miembro de los protozoos: microorganismos eucariontes móviles, unicelulares, no fotosintéticos y de vida libre. Muchos protozoos, como *Paramecium* y *Amoeba*, viven alimentándose de otros organismos.

Punto de control
Punto del ciclo de división de las células eucariontes donde el progreso a través del ciclo puede ser detenido hasta que las condiciones sean adecuadas para que la célula avance a la siguiente etapa.

Purina
Una de las dos categorías de compuestos anulares que contienen nitrógeno hallados en el DNA y en el RNA; p. ej., adenina y guanina. (*Véase* Lámina 2-6, pp. 74-75).

Quiasma
Conexión visible en forma de X entre cromosomas homólogos apareados en la división I de la meiosis y que representa un sitio de entrecruzamiento.

Química orgánica
Rama de la química que se relaciona con los compuestos elaborados a partir del carbono. Incluye esencialmente todas las moléculas de las que están hechas las células vivas, además del agua y de iones metálicos, como el Na^+.

Quinona
Pequeña molécula transportadora de electrones móvil y liposoluble hallada en las cadenas respiratoria y de transporte de electrones fotosintética. (*Véase* Fig. 14-20).

Ras
Una de una gran familia de pequeñas proteínas de unión a GTP (también denominadas GTPasas monoméricas) que ayudan a transmitir señales de los receptores de la superficie celular al núcleo. Denominada así por el gen *Ras*, identificado por primera vez en virus que causan sarcomas en las ratas.

Rasgo complejo
Característica heredable cuya transmisión a la progenie no responde a las leyes de Mendel. Estos rasgos, por ejemplo la talla, se suelen deber a la interacción de múltiples genes, cada uno de ellos se hereda en forma mendeliana.

Ratón con desactivación génica (nulo, *knockout*)
Ratón creado por ingeniería genética en el que se ha desactivado un gen específico, por ejemplo mediante la introducción de una deleción en su DNA.

RE: *véase* **Retículo endoplasmático.**

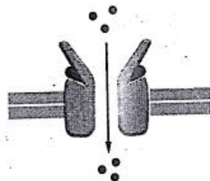
Reacción acoplada
Una de un par de reacciones químicas relacionadas en las que la energía libre liberada por la primera sirve para impulsar la segunda.

Reacción de condensación
Tipo de reacción química en la que dos moléculas orgánicas se unen entre sí por un enlace covalente con escisión concomitante de una molécula de agua.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
Técnica utilizada para la amplificación de regiones específicas de DNA por múltiples ciclos de polimerización del DNA, seguido cada uno por un breve tratamiento de calor para separar las cadenas complementarias.

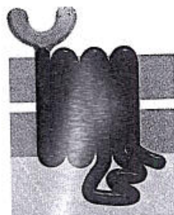
Reacción redox
Reacción en la que los electrones son transferidos desde una especie química a la otra. Una reacción de oxidorreducción.

Receptor acoplado a canal iónico
Proteína receptora o complejo proteico transmembrana que forma un canal regulado por iones que se abre en respuesta a la unión de un ligando a la cara externa del canal.



Receptor acoplado a enzimas
Proteínas receptoras transmembrana que activan una enzima intracelular (ya sea una enzima distinta o integrante del receptor propiamente dicho) en respuesta a la unión de un ligando a la parte extracelular del receptor.

Receptor acoplado a la proteína G
Receptor de la superficie celular que se asocia con una proteína intracelular trimérica de unión a GTP (proteína G) después de la activación del receptor por un ligando extracelular. Estos receptores son proteínas transmembrana de siete dominios.

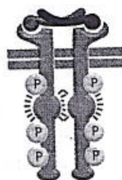


Receptor
Célula (como las células fotorreceptoras del ojo) o componente celular (como una proteína receptora) que detecta una señal externa y desencadena una respuesta celular específica.

Receptor nuclear
Proteínas receptoras presentes dentro de una célula eucarionte que se pueden unir a moléculas de señalización que ingresan en la célula, por ejemplo hormonas esteroides. El complejo de receptor nuclear y molécula de señalización actúa después como un regulador de la transcripción.

Receptor serina y treonina cinasa
Receptor acoplado a enzimas con un dominio de unión a la señal extracelular y un dominio cinasa intracelular que fosforila a las proteínas de señalización en serina o treonina.

Receptor tirosinacinasa (RTK)
Receptor acoplado a enzimas en el que el dominio intracelular tiene actividad de tirosinacinasa, que es activada por la unión del ligando al dominio extracelular del receptor.



Recombinación, reordenamiento o barajado de exones
Proceso evolutivo por el cual se forman nuevos genes ligando combinaciones de exones que inicialmente estaban separados y que codifican dominios proteicos diferentes.

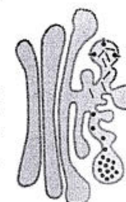
Recombinación específica de sitio
Tipo de recombinación que no requiere gran semejanza entre las dos secuencias de DNA. Puede ocurrir entre dos moléculas de DNA diferentes o dentro de una sola molécula de DNA.

Recombinación homóloga (recombinación general)
Intercambio genético entre un par de secuencias de DNA idénticas o muy similares, localizadas generalmente en un par de cromosomas homólogos. Se recurre a un proceso similar para reparar roturas bicatenarias del DNA.

Recombinación
Proceso en el que hay un intercambio de información genética entre dos cromosomas o moléculas de DNA. La recombinación mediada por enzimas se puede producir naturalmente en las células vivas o en un tubo de ensayo mediante el uso de DNA purificado y enzimas que rompen y vuelven a ligar las cadenas de DNA.

Reconocimiento: *véase* **Reconocimiento molecular**.

Red trans de Golgi (TGN)
Parte del complejo de Golgi más alejada del retículo endoplasmático y de la que salen las proteínas y los lípidos que forman los lisosomas, vesículas secretoras o la superficie celular.



Reducción
Adición de densidad de electrones a un átomo, como ocurre durante el agregado de hidrógeno a un átomo de carbono o durante la eliminación de oxígeno de éste. Lo contrario de la oxidación. (*Véase* Fig. 3-11).

Registro de zona
Técnica en la que la punta de un pequeño electrodo de vidrio es sellada sobre una zona de la membrana celular, lo que posibilita el registro del flujo de corriente a través de canales iónicos individuales de la zona.

Regulador de la transcripción
Proteína que se une específicamente a una secuencia de DNA reguladora y que interviene en el control de la activación o desactivación de un gen.

REL: *véase* **Retículo endoplasmático liso**.

Reparación de apareamientos erróneos
Importante mecanismo de corrección de errores en la replicación del DNA que es desencadenado por el ajuste incorrecto ("apareamiento erróneo") de pares de bases no complementarias.

Reparación del DNA
Término colectivo de los procesos enzimáticos por los que se corrigen cambios perjudiciales que afectan la continuidad o la secuencia de una molécula de DNA.

Replicación del DNA
Proceso por el cual se fabrica una copia de una molécula de DNA.

Represor de triptófano
Proteína bacteriana que, en presencia de triptófano, se une a una región específica del DNA y anula la producción de las enzimas biosintéticas de triptófano.

Represor
En las bacterias, una proteína que se une a una región específica del DNA impidiendo la transcripción de un gen adyacente.

Reproducción asexual
Cualquier tipo de reproducción (como la gemación en la *Hydra*, la fisión binaria en las bacterias o la división mitótica en los microorganismos eucariontes) que no implica la formación y fusión de gametos. Produce un individuo genéticamente idéntico al progenitor.

Reproducción sexual
Tipo de reproducción en la que los genomas de dos individuos se mezclan y forman un nuevo organismo. Los individuos producidos por reproducción sexual difieren de sus progenitores y entre sí.

Respiración
Término general para cualquier proceso celular en el que la captación de oxígeno molecular (O_2) está acoplada a la producción de CO_2.

Respuesta a proteínas no plegadas
Respuesta celular desencadenada por la acumulación de proteínas mal plegadas en el retículo endoplasmático. La célula produce más retículo endoplasmático, y se necesita más de la maquinaria celular para restablecer el plegamiento y procesamiento correctos de las proteínas.

Retículo endoplasmático (RE)
Compartimiento laberíntico delimitado por una membrana del citoplasma de las células eucariontes donde se producen lípidos, proteínas de secreción y de unión a la membrana.

Retículo endoplasmático liso (REL)
Región del retículo endoplasmático no asociada con ribosomas; interviene en la síntesis de lípidos.



Retículo endoplasmático rugoso (RER)
Región del retículo endoplasmático asociada con ribosomas e involucrada en la síntesis de proteínas unidas a membrana y secretadas.

Retrotransposón
Tipo de elemento transponible que se mueve al ser transcripto primero a una copia de RNA que, después, es reconvertida a DNA por una transcriptasa inversa e insertada en otra parte del cromosoma.

Retrovirus
Virus que contiene RNA que se replica en una célula produciendo primero un DNA intermediario bicatenario. Este DNA se inserta en el cromosoma de la célula, donde se puede mantener por un período prolongado y es transcripto produciendo nuevos genomas virales y mRNA que codifican proteínas del virus.

Ribointerruptor
Secuencias cortas dentro de algunos RNA que cambian su conformación cuando se unen específicamente a moléculas pequeñas, como metabolitos, y de esta manera regulan la transcripción o la traducción.

Ribosoma
Partícula compuesta por RNA ribosómicos y proteínas ribosómicas que se asocia con RNA mensajero y cataliza la síntesis de proteínas.

Ribozima
Una molécula de RNA que posee propiedades catalíticas.

RNA (ácido ribonucleico)
Polinucleótico monocatenario (en general) en forma de cadena de subunidades ribonucleotídicas unidas covalentemente. Se sintetiza cuando una RNA polimerasa copia la secuencia nucleotídica del DNA. El RNA cumple una serie de funciones en las células. *Véase* por ejemplo RNA mensajero, micro-RNA, RNA ribosómico, RNA de transferencia.

RNA de interferencia pequeño (siRNA)
Longitudes cortas de RNA producidas a partir de RNA bicatenario durante el proceso de interferencia por RNA (ribointerferencia). Aparean sus bases con secuencias idénticas de otros RNA, lo que determina la desactivación o la destrucción del RNA diana.

RNA de transferencia (tRNA)
Grupo de moléculas pequeñas de RNA utilizadas en la síntesis proteica como interfaz (adaptador) entre el mRNA y los aminoácidos. Cada tipo de molécula de tRNA está unida en forma covalente a un aminoácido particular.

RNA mensajero (mRNA)
Molécula de RNA que especifica la secuencia de aminoácidos de una proteína. Producido por el corte y empalme del RNA (en los eucariontes) a partir de una molécula de RNA de mayor tamaño fabricada por una RNA polimerasa como una copia complementaria de DNA. Es traducido a proteína en un proceso catalizado por los ribosomas.

RNA polimerasa
Enzima que cataliza la síntesis de una molécula de RNA sobre un molde de DNA a partir de los nucleósidos trifosfatos precursores.

RNA primer Cebador RNA: *véase* **Cebador.**

RNA ribosómico (rRNA)
Cualquiera de una serie de moléculas de RNA específicas que forman parte de la estructura de un ribosoma y que participan en la síntesis de proteínas. Con frecuencia, se lo distingue por su coeficiente de sedimentación, como rRNA 28S o rRNA 5S.

rRNA: *véase* **RNA ribosómico**.

RTK: *véase* **Receptor tirosincinasa**.

Sarcómero
Unidad repetida de una miofibrilla en una célula muscular, de cerca de 2,5 μm de longitud, compuesta por un haz de filamentos finos (actina) y gruesos (miosina) superpuestos.



Saturado
Término que describe a una molécula orgánica que no contiene enlaces carbono-carbono dobles ni triples. Lo contrario de insaturado.

Secreción
Producción y liberación de una sustancia de una célula.

Secuencia de aminoácidos
Orden de los residuos aminoacídicos de una cadena proteica. Denominada a veces estructura primaria de una proteína.

Secuencia de DNA reguladora
Secuencia de DNA a la que se une un regulador de la transcripción para determinar cuándo, dónde y en qué cantidades se transcribirá un gen a RNA.

Secuencia
Orden lineal de monómeros en una molécula grande: p. ej., los aminoácidos en una proteína o los nucleótidos en el DNA. Por lo general, la secuencia de una macromolécula especifica su función biológica precisa.

Secuencia señal
Secuencia de aminoácidos que dirige a una proteína hacia una localización específica de la célula, como el núcleo o las mitocondrias.

Segundo mensajero
Molécula pequeña formada en el citosol o liberada en él en respuesta a una señal extracelular que ayuda a transmitir la señal hacia el interior de la célula; p. ej., cAMP, IP3 y Ca^{2+}.

Selección por purificación
Proceso de selección durante la evolución en el que son eliminados los individuos que presentan mutaciones que interfieren con funciones importantes.

Señalización celular
Mecanismos moleculares mediante los cuales las células detectan estímulos externos, responden a ellos y envían mensajes a otras células.

Serina/treonina cinasa
Enzima que fosforila proteínas específicas en serinas o treoninas.

Simbiosis
Asociación íntima entre dos organismos de diferentes especies de la cual deriva una ventaja selectiva a largo plazo.

Sinapsis
Unión especializada entre una célula nerviosa y otra célula (célula nerviosa, célula muscular, célula glandular) a través de la cual se transfiere el impulso nervioso. En la mayor parte de las sinapsis, la señal es transportada por un neurotransmisor, que es secretado por la célula nerviosa y se difunde hacia la célula diana.



Sintenía conservada
Regiones del genoma donde los genes correspondientes están en el mismo orden en las especies comparadas.

siRNA: *véase* **RNA de interferencia pequeño.**

Sistema de control del ciclo celular
Red de proteínas reguladoras que rigen el avance de una célula eucarionte a través del ciclo celular.

Sitio activo
Región especializada de la superficie de una enzima a la que se une una molécula de sustrato antes de experimentar una reacción catalizada.

Sitio de unión
Región de la superficie de una proteína, típicamente una cavidad o un surco, cuya forma es complementaria de una segunda molécula (ligando) con la que forma múltiples enlaces no covalentes.

SNARE
Una de una familia de proteínas de membrana responsable de la fusión selectiva de vesículas con una membrana diana en el interior de la célula.

SNP: *véase* **Polimorfismo de un solo nucleótido.**

snRNA: *véase* **RNA nuclear pequeño.**

snRNP snRNP: *véase* **Partícula ribonucleoproteica nuclear pequeña.**

Soluto
Cualquier molécula que se disuelve en un líquido. El líquido se denomina solvente.

Subunidad
Monómero que forma parte de una molécula más grande, como un residuo aminoácido en una proteína o un nucleótido en un ácido nucleico. También se puede referir a una molécula completa que forma parte de una molécula más grande. Muchas proteínas, por ejemplo, están compuestas por múltiples cadenas polipeptídicas, y cada una es denominada subunidad proteica.

Sustitución génica
Reemplazo de un gen normal de un organismo por uno que ha sido mutado in vitro; se utiliza para investigar la función de los genes.

Sustrato
Superficie sólida a la que se adhiere una célula.

Sustrato
Sustancia sobre la cual actúa una enzima.

Tecnología de recombinación del DNA (ingeniería genética)
Conjunto de técnicas mediante las cuales se combinan segmentos de DNA de diferentes fuentes para producir DNA nuevo. Los DNA recombinantes se utilizan mucho en la clonación de genes, la modificación genética de organismos y en la biología molecular en general.

Tejido
Masa organizada de células con una función específica que forma una parte distintiva de una planta o de un animal.

Tejido conectivo
Tejidos como hueso, tendones y dermis de la piel, en los que la matriz extracelular es abundante y soporta la carga mecánica.

Telofase
Estadio final de la mitosis en el que dos grupos de cromosomas separados se descondensan y quedan incluidos en las envolturas nucleares.

Telomerasa
Enzima que alarga los telómeros, las secuencias nucleotídicas repetitivas que se encuentran en los extremos de los cromosomas eucariontes.

Telómero
Estructura en los extremos de un cromosoma, asociada con una secuencia de DNA característica que se replica de un modo especial. Contrarresta la tendencia del cromosoma a acortarse con cada ronda de replicación. (Del griego *telos*, que significa "extremo").

Tipo silvestre
Forma normal no mutada de una especie que resulta de la cría en condiciones naturales.

Tirosincinasa
Enzima que fosforila tirosinas de proteínas específicas.

Traducción
Proceso por el cual la secuencia de nucleótidos de una molécula de RNA mensajero dirige la incorporación de aminoácidos a la proteína; se produce en un ribosoma.

Trans
Más allá o del otro lado.

Transcripción del DNA: *véase* **Transcripción.**

Transcripción
Proceso que utiliza una cadena de DNA como molde para sintetizar una secuencia de RNA complementaria, denominada a veces transcripto primario, y que es catalizado por la enzima RNA polimerasa.

Transcriptasa inversa
Enzima que fabrica una copia de DNA bicatenario a partir de una molécula molde de RNA monocatenario. Presente en los retrovirus y parte de la maquinaria de transposición de los retrotransposones.

Transcripto primario: *véase* **Transcripción.**

Transducción de señales
Conversión de un impulso o de un estímulo de una forma física o química en otra. En biología celular, proceso por el cual una célula responde a una señal extracelular.

Transferencia génica horizontal
Proceso a través del cual el DNA pasa de un organismo a otro, lo que modifica de modo permanente la composición del DNA del receptor. Este pasaje contrasta con la transferencia génica "vertical", que se refiere a la herencia de genes del progenitor a la progenie.

Transformación
Proceso por el cual las células captan moléculas de DNA de sus alrededores y luego expresan genes de ese DNA.

Transportador
Proteína de membrana que transporta iones o moléculas a través de una membrana celular.

Transportador activado
Pequeña molécula utilizada para transportar energía o grupos químicos en muchas reacciones metabólicas diferentes. Algunos ejemplos son ATP, acetil CoA y NADH.

Transportador de electrones
Molécula como la del citocromo c que transfiere un electrón de una molécula donante a una molécula aceptora.

Transporte acoplado
Proceso por el cual una proteína de transporte de membrana transporta una molécula y en el cual la transferencia de una molécula depende de la transferencia simultánea o secuencial de una segunda molécula.

Transporte activo
Movimiento de una molécula a través de una membrana impulsado por la hidrólisis del ATP u otra forma de energía metabólica.

Transporte pasivo
Movimiento de una molécula pequeña o de un ión a través de una membrana, debido a una diferencia de concentración o de carga eléctrica.

Transporte vesicular
Transporte de material entre orgánulos de una célula eucarionte mediante vesículas delimitadas por membranas.

Transposón (elemento transponible)
Denominación general de segmentos cortos de DNA que se pueden mover de una localización a otra en el genoma. También se lo conoce como elemento genético móvil.

Triacilglicerol
Ésteres de glicerol de ácidos grasos. El principal componente de las gotitas de grasa de los tejidos animales (donde los ácidos grasos son saturados) y del aceite vegetal (donde los ácidos grasos son principalmente insaturados).

tRNA iniciador
tRNA especial que inicia la traducción. Siempre lleva el aminoácido metionina.

tRNA: *véase* **RNA de transferencia.**

Tubulina
Proteína de la que están formados los microtúbulos.

Unión adherente
Unión celular en la que la cara citoplasmática está unida a los filamentos de actina.

Unión celular
Región especializada de conexión entre dos células o entre una célula y la matriz extracelular.

Unión comunicante
Unión de comunicación intercelular que permite el paso de iones y de moléculas pequeñas del citoplasma de una célula al citoplasma de la siguiente.

Unión de extremos no homólogos
Mecanismo de reparación de rupturas bicatenarias del DNA en el que se aproximan los dos extremos rotos y se los vuelve a unir sin requerir homología de secuencia.

Unión estrecha
Unión intercelular que sella las células epiteliales adyacentes, lo que evita el pasaje de la mayor parte de las moléculas disueltas de un lado a otro de la lámina epitelial.

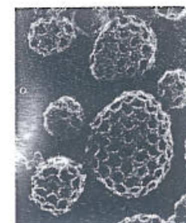
Valencia
Para un átomo, el número de electrones que debe ganar o perder (sea por compartir electrones o por transferirlos) para llenar su orbital externo rápidamente. Así, por ejemplo, la valencia del Na es uno (debe perder un electrón) y la valencia del Cl es uno (debe ganar un electrón). La valencia de un átomo es igual al número de enlaces simples que el átomo puede formar.

Vector
Elemento genético, en general un bacteriófago o un plásmido, que se utiliza para transportar un fragmento de DNA hacia una célula receptora con el objetivo de clonar un gen.

Vesícula
Orgánulo esférico pequeño, delimitado por una membrana, del citoplasma de una célula eucarionte.

Vesícula de transporte
Vesícula de membrana que transporta proteínas de un compartimiento intracelular a otro, por ejemplo del RE al complejo de Golgi.

Vesícula con cubierta
Pequeño orgánulo encerrado en la membrana con una jaula de proteínas (el revestimiento) sobre su superficie citosólica. Está formada por la evaginación de una región de membrana revestida de proteínas.



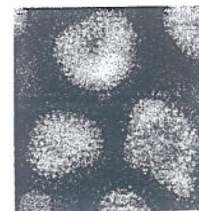
Vesícula secretora
Orgánulo delimitado por membrana en el que se almacenan las moléculas destinadas a la secreción antes de su liberación. A veces recibe el nombre de gránulo secretor porque el contenido de tinción oscura determina que el orgánulo se visualice como un objeto sólido pequeño.

Vesícula sináptica
Saco pequeño delimitado por membrana y ocupado por un neurotransmisor que libera su contenido mediante exocitosis en una sinapsis.

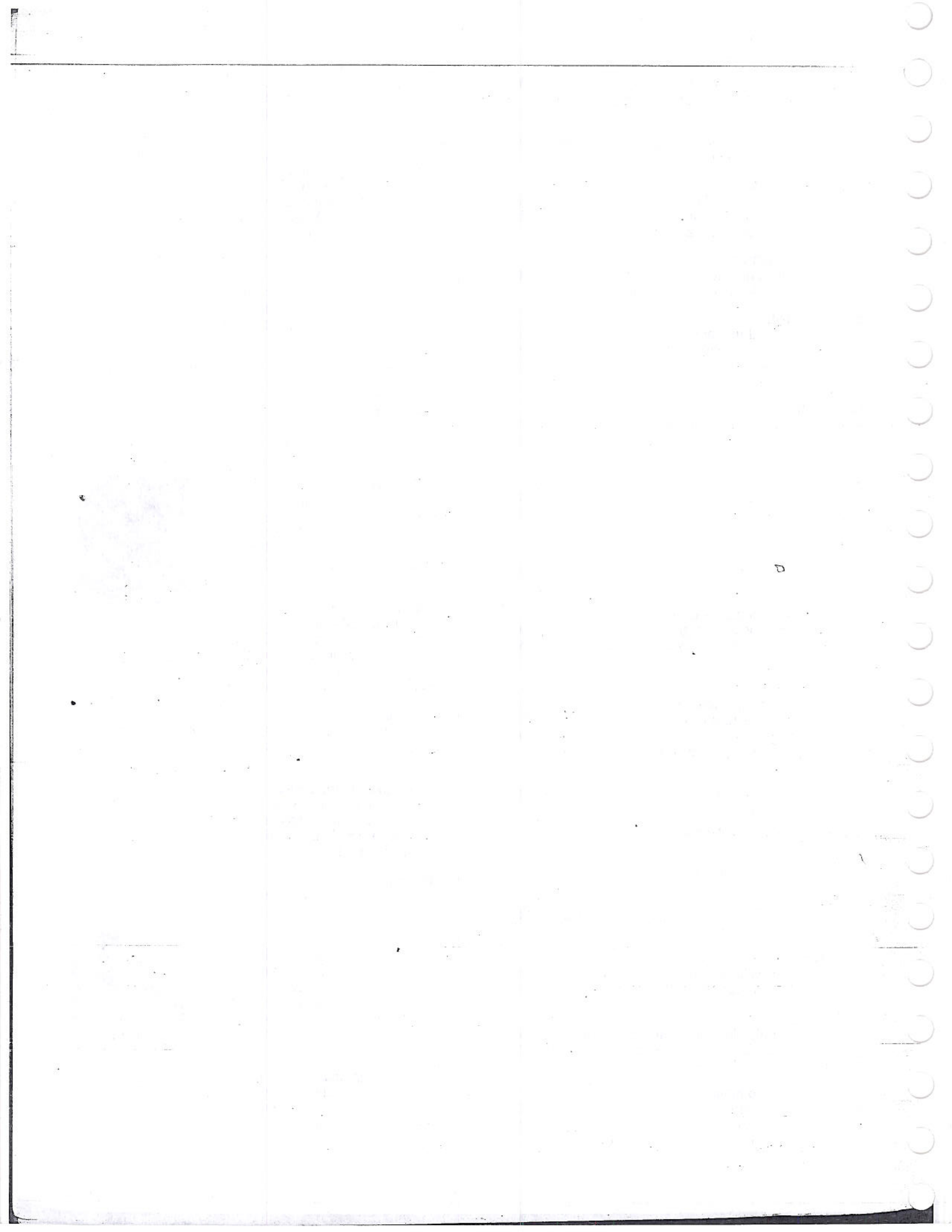
Vía de señalización intracelular
Conjunto de proteínas y de segundos mensajeros de molécula pequeña que interactúan entre sí transmitiendo una señal de la membrana celular a su destino final en el citoplasma o el núcleo.

Vía metabólica
Secuencia de reacciones enzimáticas en las que el producto de una reacción es el sustrato de la siguiente.

Virus
Partícula que consiste en ácido nucleico (RNA o DNA) incluido en un revestimiento proteico y capaz de replicarse dentro de una célula hospedadora y propagarse de una célula a otra. Con frecuencia, es causa de enfermedad.



$V_{máx}$
Velocidad máxima de una reacción enzimática, alcanzada inmediatamente después del agregado del sustrato en una concentración suficiente para ocupar por completo los sitios activos de todas las moléculas de enzima presentes.

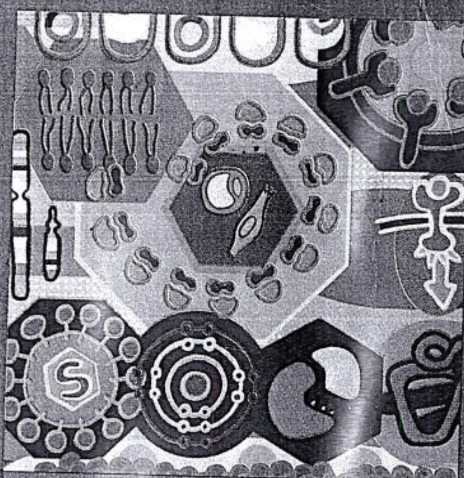


Índice analítico

Los números seguidos de la letra C corresponden a cuadros, los seguidos de la letra F corresponden a figura.



Alberts • Bray • Hopkin • Johnson • Lewis • Raff • Roberts • Walter



Introducción a la Biología Celular

3ª EDICIÓN

Existen muchas razones prácticas que justifican el estudio de la biología celular: estamos formados por células, nos alimentamos de células y nuestro mundo es habitable por la actividad de las células. Es necesario entender esta ciencia para comprendernos a nosotros mismos, para cuidar nuestra salud y nuestra alimentación, y para proteger a los ecosistemas en peligro de extinción.

La biología celular es una disciplina amplia y tiene vínculos con casi todas las ramas de la ciencia. Su estudio es fascinante, pero resulta fácil perderse en el detalle y distraerse con la sobrecarga de información y de terminología técnica. Por eso, este libro ofrece una explicación sencilla y atractiva de los principios esenciales. Las características sobresalientes de esta tercera edición incluyen:

- Actualización de todos los contenidos con material nuevo sobre la estructura del cromosoma y la epigenética, el microRNA y el RNAi, el control de calidad de las proteínas, el reconocimiento entre las células, la variación genética, las células madre y su potencial médico, los tratamientos racionales contra el cáncer y la evolución del genoma.
- Excelentes diagramas que destacan los conceptos centrales y términos claves resaltados cuando aparecen por primera vez y reunidos, además, al final del libro en un extenso glosario ilustrado.
- Preguntas en los márgenes del texto y al final de cada capítulo cuyo objetivo es estimular a los estudiantes a pensar sobre lo leído y hacer una pausa para verificar la comprensión del tema; y las respuestas a todas las preguntas agrupadas al final del libro.
- Un DVD-ROM para los docentes con más de 130 videoclips, animaciones, estructuras moleculares y microfotografías de alta resolución, diseñados para complementar cada capítulo.

Introducción a la Biología Celular explica, de forma clara, incluso para el lector que se acerca por primera vez a la biología moderna, cómo funciona la célula viva y cómo las moléculas de la célula –en especial las proteínas, el DNA y el RNA– cooperan para crear este sistema notable que se nutre, responde a los estímulos, se mueve, crece, se divide y se duplica. Propo[illegible] celular necesarios para comprender los aspectos bi[illegible] afectan nuestra vida.

ISBN 978-607-7743-18-7



EDITORIAL MEDICA panamericana